

Die Konstitution von Odorosid G,
einem Glykosid aus *Nerium odorum Sol.*

Gekürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der
Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

ALFRED RHEINER

aus St. Gallen

BASEL

Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie. AG.

1952



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548208_0084

Die Konstitution von Odorosid G,
einem Glykosid aus *Nerium odorum Sol.*

Gekürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde, vorgelegt der
Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

ALFRED RHEINER

aus St. Gallen

BASEL

Buchdruckerei E. Birkhäuser & Cie. AG.

1952

Genehmigt von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. *T. Reichstein* und Dr. *H. Erlenmeyer*.

Basel, den 26. Juni 1951.

Prof. Dr. *A. Ostrowski*,
Dekan.

Herrn *Alfred Rheiner* wurde von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 26. Juni 1951 erlaubt, diese gekürzte Fassung seiner am 26. Juni 1951 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

*Die Konstitution von Odorosid G,
einem Glykosid aus Nerium odorum Sol.*

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Chemischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.



Meinen lieben Eltern
in herzlicher Dankbarkeit gewidmet

Meinem verehrten Lehrer,

Herrn Prof. Dr. *T. Reichstein*,

möchte ich für sein mir stets erwiesenes Wohlwollen,
für seine freundliche Hilfsbereitschaft und für die
vielen guten Ratschläge und Anregungen bei der vor-
liegenden Arbeit aufrichtig danken.

Die Konstitution von Odorosid G, einem Glykosid aus *Nerium odorum* Sol.

Aus der Stamm- und Zweigrinde des wohlriechenden Oleanders, *Nerium odorum* Sol. (Apocynaceae), isolierten *Rangaswami & Reichstein*^{b)} 1) 7 krist. herzwirksame Glykoside und bezeichneten sie als Odoroside A—G. Aus den Blättern derselben Pflanze isolierten *Ishidate & Tamura*²⁾ das bekannte Oleandrin³⁾ und *Nakaoki*⁴⁾ den Flavonolfarbstoff Rutin. Die Konstitution der Odoroside A und B wurde aufgeklärt¹⁾. Hier wird über die Konstitutionsaufklärung des „Odorosids G“ berichtet.

Zur Isolierung des genannten Glykosids dienten 8 kg Stammrinde, die uns für diesen Zweck von der Andhra University durch Herrn Prof. *S. Rangaswami* übergeben wurden⁵⁾. Die Aufarbeitung geschah in geringer Abänderung der früheren Vorschrift^{b)} wie folgt:

Das Rindenpulver wurde zuerst mit 130 Litern Äther (10 Tage), dann mit 25 und schliesslich mit 100 Litern Methanol (10 Tage) erschöpfend perkoliert⁶⁾. Der Rückstand schmeckte hierauf nicht mehr bitter und wurde verworfen. Die Verarbeitung des Ätherperkolats (385 g entspr. 4,8%) wird später beschrieben^{b)}.

Die zwei Methanolperkolate A und B wurden separat weiter behandelt. Sie lieferten nach Einengen und mehrwöchigem Stehen insgesamt 132 g rohe krist. Saccharose. Weitere Mengen desselben Zuckers wurden aus den wässrigen Restlösungen nach dem Ausschütteln (siehe unten) erhalten. Die im Vakuum eingedampfte Mutterlauge aus Methanolperkolat A (150,1 g) wurde wie üblich mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$ ge-

1) Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe bei den Formeln.

2) *M. Ishidate & Z. Tamura*, J. Pharm. Soc. Japan **70**, 239 (1950); C. A. **45**, 822e (1951).

3) *W. Neumann*, B. **70**, 1547 (1937); *R. Tschesche*, B. **70**, 1554 (1937); *G. Hesse*, B. **70**, 2264 (1937); *R. Tschesche, K. Bohle & W. Neumann*, B. **71**, 1927 (1938).

4) *T. Nakaoki*, J. Pharm. Soc. Japan **69**, 321 (1949); C. A. **44**, 1977e (1950).

5) Wir danken Herrn Prof. *S. Rangaswami* und der *Andhra University*, Waltair, Süd-Indien, auch hier bestens für dieses Material. Es wurde im Mai-Juni 1948 in der Umgebung von Travancore (Indien) gesammelt und an der Luft getrocknet versandt.

6) Diese Operation wurde von den Herren Prof. *E. Schlüttler* und *R. Endres* in der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel, ausgeführt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

reinigt und anschliessend aus Wasser mit Chloroform sowie mit Chloroform-Alkohol-Gemischen¹⁾ ausgeschüttelt, und gab 22,9 g (0,29 %) Chloroformextrakt, 33,8 g (0,42 %) Chloroform-Alkohol-(9:1)²⁾-Extrakt und 14,4 g (0,18 %) Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt. Die verbliebene wässrige Phase wurde zusammen mit dem analogen Teil aus Methanolperkolat B weiter verarbeitet.

Das Methanolperkolat B (1032 g entspr. 13 %) wurde wie oben getrennt und gab 67,7 g (0,84 %) Chloroformextrakt, 101,6 g (1,27 %) Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt und 170,9 g (2,14 %) Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Die verbliebenen wässrigen Phasen aus beiden Methanolperkolaten wurden zusammen im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde durch Umfällen aus Methanol mit abs. Alkohol vorgereinigt und die alkohollöslichen Anteile aus wenig Wasser nochmals mit Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch ausgeschüttelt, wobei sich noch 8,7 g Material erhalten liessen, die mit dem ersten Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt vereinigt wurden. Insgesamt wurden aus beiden Perkolaten erhalten:

- 90,6 g (1,13 %) grüner Chloroformextrakt,
- 135,4 g (1,69 %) zitronengelber Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt,
- 194,0 g (2,43 %) zitronengelber Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Die zwei erstgenannten Extrakte dienten zur Isolierung von Odorosid H und anderen Stoffen^{b)}. „Odorosid G“ wurde wieder in Form seines Acetats aus dem Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt beider Methanolperkolate (A und B) isoliert. Es wurde dafür entweder der rohe Extrakt grob chromatographiert und nur diejenigen Fraktionen acetyliert, die dabei viel Kristalle lieferten (Methode A); oder es wurde direkt der rohe Extrakt acetyliert und das Gemisch der Acetate chromatographisch getrennt (Methode B). Beide Verfahren gaben ähnliche Ausbeuten. Insgesamt wurden 54,9 g (0,686 %) hellgelbe Rohkristalle erhalten. Chromatographische Reinigung gab 39,2 g fast reines, aber noch leicht gelbstichiges Material, das für den Abbau verwendet wurde. Völlige Reinigung einer Probe lieferte farblose Prismen, die nach Smp., Drehung und Mischprobe mit dem früher beschriebenen Präparat^{b)} identisch waren. Die genannte Trennung lieferte auch eine Reihe krist. Nebenprodukte, die aber nicht untersucht wurden.

Das früher^{b)} als Odorosid-G-acetat bezeichnete, gut kristallisierende Acetat besitzt, wie gleich gezeigt wird, die Formel IV, in der lediglich die Verknüpfungsstelle zwischen der mittleren Glukosemolekel und dem Digitaloseanteil unsicher ist und willkürlich formuliert wurde. Diese Verknüpfung kann sich auch an C-2 der Digitalose be-

¹⁾ Von A. Stoll, J. Renz & W. Kreis, *Helv.* **20**, 1484 (1937), zum Ausschütteln stark wasserlöslicher Glykoside empfohlen.

²⁾ Verhältnis der Volumina; dies gilt für alle Angaben über Verhältniszahlen.

finden¹⁾. Aus den unten erwähnten Gründen bezeichnen wir es jetzt als Odorotriosid-G-octacetat (IV). Verseifung dieses Acetats IV mit KHCO_3 in wässrigem Methanol lieferte Kristalle, deren Einheitlichkeit nicht völlig gesichert ist, die aber nach ihren Eigenschaften mit dem früher als Odorosid G^{b)} bezeichneten Präparat identisch waren. Da es sich aber zeigte, dass der Stoff (oder die darin enthaltene Hauptkomponente) noch eine Acetylgruppe enthält und die Formel III besitzt, so soll er von nun an als Odorotriosid-G-monoacetat (III) bezeichnet werden. Reacetylierung dieses Monoacetates III gab wieder das Octacetat IV. Das zugrunde liegende freie Odorotriosid G (II) ist bisher nicht erhalten worden.

Einwirkung von Strophanthobiase²⁾ auf das Odorotriosid-G-monoacetat (III) lieferte unter Abspaltung von D-Glucose³⁾ ein Gemisch, das hauptsächlich aus Glykosid-monoacetaten bestand. Durch Chromatographie liessen sich daraus etwa 56 % Odorobiosid-G-monoacetat (VI) und etwa 20 % Odorosid-H-monoacetat (X) gewinnen. In Spuren wurden daneben noch freies Odorosid H (IX)⁴⁾ und Strosposid-monoacetat (= Desgluco-digitalinum-verum-monoacetat)^{5) 6)} erhalten. Erneute Einwirkung von Strophanthobiase auf VI gab wiederum nur wenig Monosid. Daher wurde eine Anzahl anderer hydrolysierender Enzyme geprüft und gleichzeitig auch die Spaltung von Digitalinum verum als Modell versucht. Dabei zeigte es sich, dass sich VI und Digitalinum verum⁷⁾ gegenüber den hier versuchten Enzymen praktisch gleich verhalten (siehe Tab. I, S. 692).

Die Cellulase, das „Luizym“ sowie die Enzyme aus *Coronilla glauca* bewirkten keine Zuckerabspaltung, obwohl die zwei letztgenannten andere Glykoside (siehe Literatur bei Tab. I) zu spalten vermögen. Die Enzymlösung aus *Coronilla glauca* bewirkte hingegen eine teilweise Abspaltung der Acetylgruppe. Ganz besonders glatt wurden beide Glykoside mit dem Enzym aus den Samen von

¹⁾ Dasselbe gilt für die Formeln II, III, IV, V, VI und VII sowie für die Stellung der Acetylgruppe in X und XII.

²⁾ Es wurde ein aus den Samen von *Strophanthus kombé* nach J. Schmutz & T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **22**, 370 (1947), bereitetes Präparat verwendet.

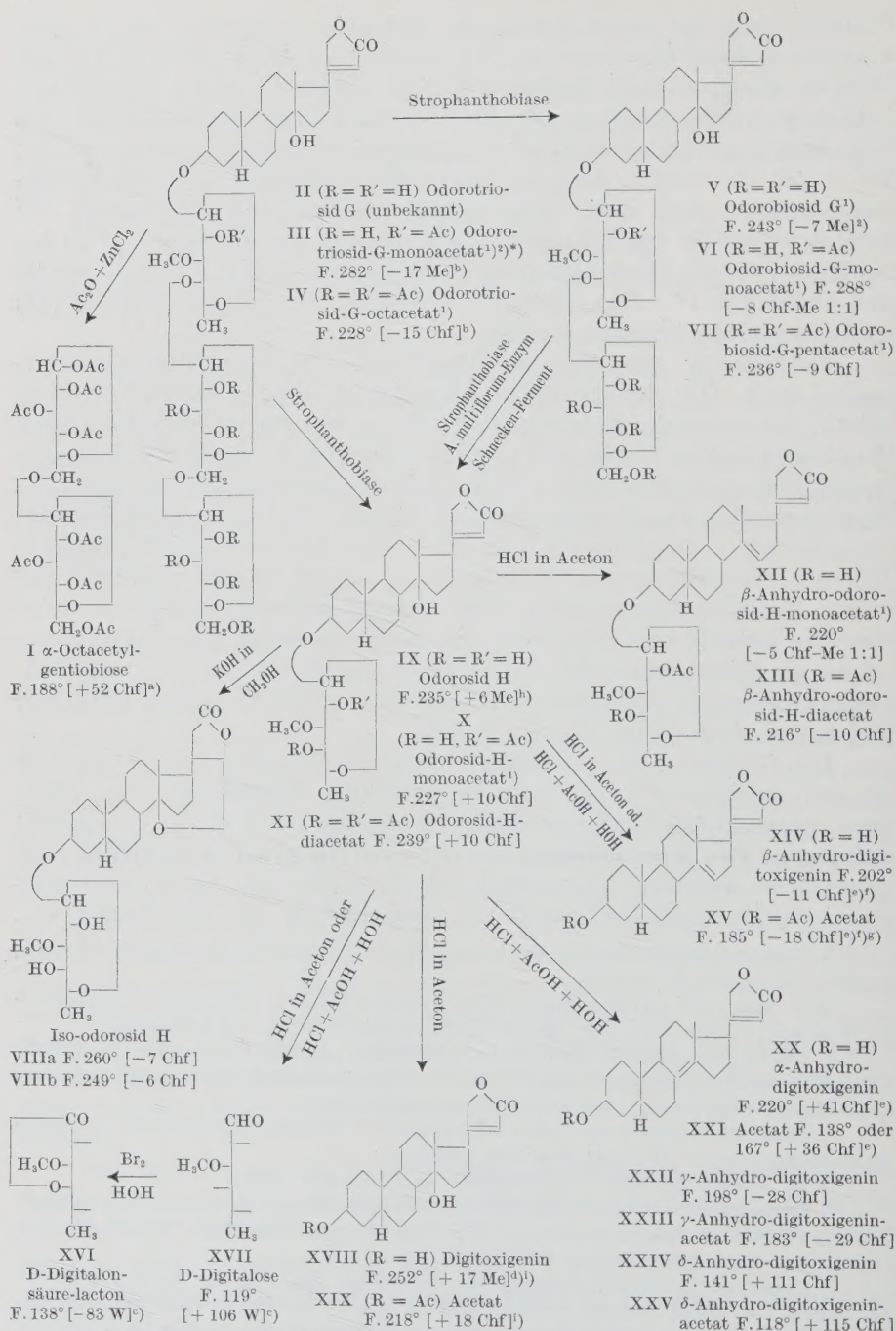
³⁾ Der hier erhaltene Zucker war mit Hefe völlig vergärbar. Eine weitere Identifizierung erfolgte nicht. Dass es sich tatsächlich um D-Glucose handelt, folgt aus der Isolierung von α -Octacetyl-gentiobiose bei der Acetolyse (siehe später).

⁴⁾ Dieser Stoff könnte aus freiem Odorotriosid G (II), das möglicherweise in Spuren im Ausgangsmaterial (III) enthalten war, stammen.

⁵⁾ W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 434 (1952).

⁶⁾ Dieser Stoff könnte aus Digitalinum-verum-monoacetat stammen, das möglicherweise in Spuren im Ausgangsmaterial (III) enthalten war. Die Rinde enthält reichlich Digitalinum verum (siehe spätere Mitteilung).

⁷⁾ Dafür wurde ein Handelspräparat verwendet, das von der Fa. F. Hoffmann-La Roche & Co., Basel, bezogen wurde. Die Kontrolle ist bei diesem Glykosid recht einfach, da Strosposid sich aus viel Wasser leicht mit Chloroform ausschütteln lässt, während Digitalinum verum dabei vorwiegend in der wässrigen Phase verbleibt. Zur Trennung von VI und X muss dagegen chromatographiert werden.



Ac = CH₃CO-. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Chf = Chloroform, Me = Methanol, W = Wasser.

*) Anmerkungen siehe folgende Seite.

Adenium multiflorum gespalten. Aus VI entstand dabei in ausgezeichnete Ausbeute ein Monoglykosid-monoacetat X, das wir aus den unten mitgeteilten Gründen als Odorobiosid-H-monoacetat bezeichnen. Der dabei frei werdende Zucker liess sich durch das p-Nitrophenylhydrazon als D-Glucose identifizieren. Nebenher wurden auch hier in Spuren wieder freies Odorobiosid H (IX) sowie Strophosid-monoacetat (= Desgluco-digitalinum-stamm-monoacetat) erhalten, die aus geringen Mengen von Verunreinigungen des Ausgangsmaterials (VI) stammen dürften.

Einwirkung von Schwefelkohlenstoff auf VI gab nur teilweise Abspaltung von Glucose, dagegen wurde die Acetylgruppe praktisch vollständig hydrolysiert, so dass ein Gemisch von Odorobiosid G (V) und Odorobiosid H (IX) entstand, die durch Chromatographie rein erhalten wurden. Odorobiosid H (IX) entstand fast quantitativ auch aus dem Monoacetat X mit Schwefelkohlenstoff; in schlechter Ausbeute auch durch Verseifung mit KHO_3 in wässrigem Methanol oder mit Bariummetholat nach Ziegler & Herz¹⁾. Bei letzterer Reaktion trat aber teilweise Isomerisierung ein; auch die Abtrennung von Ausgangsmaterial (X) und von Nebenprodukten war mühsam. Isomerisierung von X mit KOH in Methanol gab Isodorobiosid H (VIII) in zwei Formen (Plättchen und Nadeln), die sich trennen liessen und etwas verschiedene Schmelzpunkte, aber dieselbe Drenung zeigten; sie werden als α -Form (VIIIa) und β -Form (VIIIb) bezeichnet. Acetylierung von Odorobiosid-H-monoacetat (X) gab ein kryst. Diacetat XI. Odorobiosid-G-monoacetat (VI) lieferte analog ein kryst. Pentacetat VII.

Odorobiosid H (IX) kommt auch als solches in der Rinde vor²⁾ und wurde bereits schon³⁾ und als Odorobiosid H bezeichnet, bevor wir es durch den genannten Abbaugang IV erhielten. Sowohl die freien Glykoside wie die aus beiden Präparaten erhaltenen Diacetate waren nach

¹⁾ Der Satz der schwer verestfahren Acetylgruppe und die Verknüpfungsstelle des zweiten Zuckers am Digitalinrest in den Formen II, III, IV, V, VI, VII, X und XII sind einheitlich formuliert. Die Acetylgruppe kann nachgewiesen an C-4 und Digitalose und die Glucose an C-2.

²⁾ Nicht sicher einheitlich.

³⁾ C. S. Hudson & J. M. Johnston, *Am. Soc.* **29**, 1272 (1917).

⁴⁾ S. Koyanagami & T. Reichstein, *Pharm. acta Helv.* **24**, 159 (1949).

⁵⁾ I. D. Long & S. Smith, *Proc.* **1925**, 442.

⁶⁾ A. Windaus & G. Stein, *B.* **61**, 2426 (1928).

⁷⁾ S. Smith, *Proc.* **1925**, 1959.

⁸⁾ H. Hübener & T. Reichstein, *Helv.* **31**, 1470 (1948).

⁹⁾ H. Hübener & T. Reichstein, *Helv.* **28**, 1472 (1945).

¹⁰⁾ W. Rüch, A. Hunger & T. Reichstein, spätere Mitteilung.

¹¹⁾ S. Koyanagami & T. Reichstein, *Helv.* **32**, 104 (1949).

¹²⁾ P. Ziegler & A. Herz, *B.* **54**, 1703 (1921); *C. Ziegler*, *B.* **59**, 1258 (1926); *J. Ziegler* & E. Pinner, *B.* **42**, 1411 (1919), weitere Beispiele siehe besonders A. Stoll, *J. Amer. & W. Kline*, *Helv.* **24**, 1494 (1947). James P. Jennings, *Carbohydrates and the Sugars*, University of the Southern District in Washington, C. 44, Washington 1942.

Tabelle I.

Ferment	Digitalinum verum	Odorobiosid- G-mono- acetat
Cellulase aus <i>Aspergillus niger</i> ¹⁾	—	—
„Luizym“ ²⁾ aus <i>Aspergillus oryzae</i>	—	—
Enzym aus den Samen von <i>Coronilla glauca</i> ³⁾ . .	—	— ⁴⁾
Enzym aus den Samen von <i>Adenium multiflorum</i> ⁵⁾	+ ⁵⁾	+ 70—100% ⁶⁾
Enzymgemisch (Trockenpräparat) aus dem Hepatopan- kreassaft der Weinbergschnecke (<i>Helix pomatia</i>) ⁷⁾	± ⁸⁾	+ ca. 30% ⁶⁾ ⁹⁾

+ bedeutet gute Spaltung.

— bedeutet keine merkliche Spaltung.

Smp., Drehung, Analyse, Mischprobe, Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 und Papierchromatographie identisch. Da sowohl die freien Glykoside (IX) wie die Diacetate (XI) unter Zersetzung schmelzen, wurden noch die Infrarot-Spektren der beiden Diacetate in Chloroform verglichen¹⁰⁾, sie bestätigten die Identität der Präparate (vgl. Kurven).

Zur Konstitutionsaufklärung des Odorosids H (IX) wurde das Monoacetat X der Spaltung mit HCl in Aceton nach der Methode von *Mannich & Siewert*¹¹⁾ unterworfen. Aus den dabei erhaltenen chloroformlöslichen Teilen liessen sich durch Chromatographie ausser 10,5 %

¹⁾ Es handelt sich um technisches, zum Entschlichten von Baumwolle dienendes Präparat, für das wir der Schweizerischen Ferment A.G., Basel, auch hier bestens danken möchten. Es enthielt nach Angaben 2000 Einheiten in 100 g und bewirkte in einer Konzentration von 0,05% in einer 1-proz. Lösung von Methylcellulose bei pH = 5 und 20° innerhalb 3 Std. eine Abnahme der Viskosität um 50%.

²⁾ Präparat des *Luitpold-Werkes*, München, das uns freundlichst überlassen wurde, wofür auch hier bestens gedankt sei. Das Präparat vermag nach *R. Tschesche, H. Sellhorn & K. H. Brathge*, B. **84**, 576 (1951), das Diglucosid Uzarin glatt zu spalten.

³⁾ Vgl. *A. Stoll, A. Pereira & J. Renz*, Helv. **32**, 293 (1949), sowie *A. Stoll & J. Renz*, Helv. **33**, 286 (1950). Wir danken den Herren Prof. *A. Stoll* & Dr. *J. Renz* von der *Sandoz A.G.*, Basel, auch hier bestens für die uns überlassene Enzymlösung.

⁴⁾ Das Enzym bewirkte eine teilweise Entacetylierung.

⁵⁾ *A. Hunger & T. Reichstein*, Helv. **33**, 76, 1993 (1950).

⁶⁾ Starke Verdünnung mit Wasser scheint die Spaltung zu begünstigen.

⁷⁾ Bereitet nach *H. Huber, F. Blindenbacher, K. Mohr, P. Speiser & T. Reichstein*, Helv. **34**, 46 (1951).

⁸⁾ Gibt nach *A. Hunger & T. Reichstein*, Helv. **33**, 76 (1950), kein befriedigendes Resultat. Nach *W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein*, Helv. **35**, 434 (1952), tritt bei Anwendung von viel Enzym eine merkliche teilweise Abspaltung zu Strosposid ein.

⁹⁾ Gleichzeitig wurde die Acetylgruppe verseift.

¹⁰⁾ Wir danken Herrn Dr. *R. N. Jones*, National Research Council, Ottawa, Canada, auch hier bestens für die Aufnahme dieser Spektren.

¹¹⁾ *C. Mannich & G. Siewert*, B. **75**, 737 (1942).

Ausgangsmaterial X und 11% β -Anhydro-odorosid-H-monoacetat (XII) noch 8,5% Digitoxigenin (XVIII) und 22% β -Anhydro-digitoxigenin (XIV) isolieren. XVIII und XIV wurden als Acetate XIX und XV charakterisiert und nach Simp., Drehung, Analyse, Farbreaktion mit H_2SO_4 und Mischprobe mit authentischem Material identifiziert¹⁾.

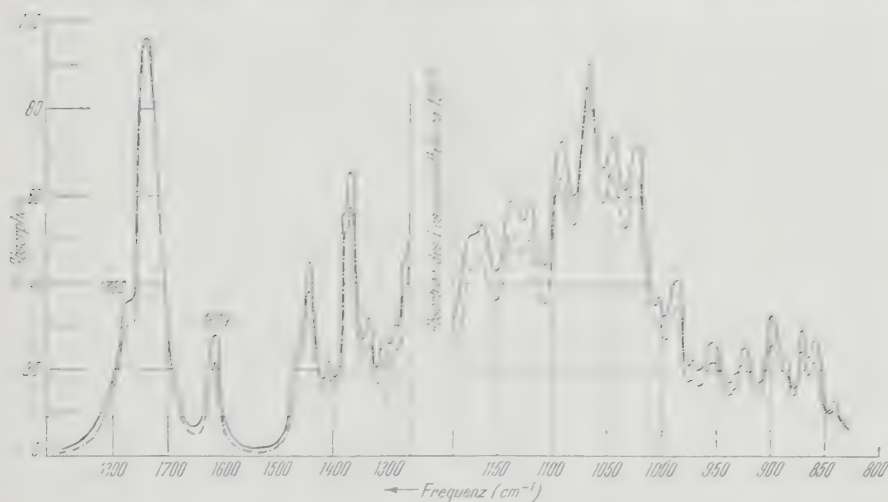


Fig. 1.

Infrarot-Absorptionsspektren²⁾.

Ausgezogene Kurve = Odorosid-H-diacetat (XI), aus direkt isoliertem freiem Odorosid H durch Acetylierung bereitet. 70 mg cm^2 .

Strich-Punkt-Kurve = Odorosid-H-diacetat (XI), durch Acetylierung von Odorosid-H-monoacetat (X) bereitet, das durch Abbau von Odorotrisid-G-octacetat (IV) erhalten war. 60 mg cm^2 .

Lösungsmittel: Chloroform. Schichtdicke 0,1 mm. NaCl-Prisma.

Die Konstitution des Anhydroglykosids XII wurde nicht streng bewiesen. Der Stoff gab ein krist. Diacetat XIII, das mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung lieferte. Die Analysen passten auf die gegebenen Formeln mit je einer Methoxylgruppe; die Lage der Doppelbindung wurde aus der Drehung abgeleitet. In Übereinstimmung damit verbrauchte das Acetat XIII bei der Hydrierung 2 Mol Wasserstoff. Die Bezeichnung β -Anhydro-odorosid-H-monoacetat erfolgte in Analogie zum gleichgebauten β -Anhydro-digitoxigenin (XIV)³⁾ und seinem Acetat XV³⁾. Der bei der Spaltung erhaltene Zucker erwies sich als

¹⁾ Das aus der Mannich-Spaltung erhaltene XV verbrauchte zum Unterschied von authentischem Vergleichspräparat (XV) bei der Mikredoximierung nur 1 Mol Wasserstoff. Für eine Wiederholung reichte die Menge nicht aus. Vgl. Anm. 1, S. 695.

²⁾ Wir danken Herrn Dr. R. N. Jones, National Research Council, Ottawa, Canada, auch hier bestens für die Aufnahme dieser Spektren.

³⁾ Da wir über die Hydrierung von β -Anhydro-digitoxigenin-acetat (XV) in der Literatur keine Angaben finden konnten, wurde eine Mischhydrierung mit Pt in Essigsäure durchgeführt. Das Präparat verbrauchte dabei 1,89 Mol Wasserstoff.

D-Digitalose (XVII), die nach Impfen kristallisierte. Sie wurde in einem andern Versuch (siehe unten) genau charakterisiert. — Dies ist, so weit uns bekannt, der erste Fall, bei dem es gelang, aus einem Digitoxingeninglykosid, das an C-2 des Zuckeranteils eine HO-Gruppe trägt, wenigstens kleine Mengen intaktes Digitoxigenin zu erhalten.

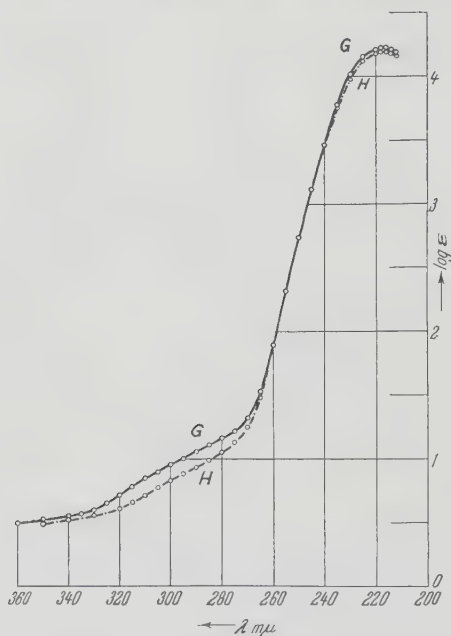


Fig. 2.

Ultraviolett-Absorptionsspektren in Alkohol.

Kurve G = Odorobiosid-G-monoacetat (VI); Maximum bei 217 mμ, log ε = 4,22 berechnet auf $C_{38}H_{58}O_{14}$ (738,84).

Kurve H = Odorosid-H-monoacetat (X); Maximum bei 217 mμ, log ε = 4,19 berechnet auf $C_{32}H_{48}O_9 \cdot H_2O$ (594,72).

Zur sicheren Identifizierung der Digitalose wurde 1 g Odorosid-H-monoacetat (X) mit HCl in wässriger Essigsäure¹⁾ bei 100° energisch hydrolysiert. Der dabei in guter Ausbeute erhaltene Zucker kristallisierte nach Impfen mit D-Digitalose und war nach Smp., Drehung, Mischprobe und Analyse mit dieser identisch. Er wurde weiter als gut krist. D-Digitalonsäurelacton (XVI) charakterisiert. Aus dem bei dieser Spaltung erhaltenen Gemisch von Anhydrogeninen liessen sich durch Chromatographie vier verschiedene Kristallisate (AR 6K, AR 15, AR 17 und AR 14) isolieren, deren Einheitlichkeit aber nicht durchweg gesichert ist.

¹⁾ Es wurde das von H. Kiliani, B. 63, 2866 (1930), empfohlene Gemisch von 3,5 Teilen Eisessig, 5,5 Teilen Wasser und 1 Teil konz. HCl verwendet.

Kristallisiert AR 6K war nach der Analyse ein Acetat $C_{25}H_{34}O_4$ und könnte unreines β -Anhydro-digitoxigenin-acetat (XV) gewesen sein. Nach Acetylierung und erneuter Kristallisation wurde ein Präparat (AR 24) erhalten, dessen Eigenschaften gut mit XV übereinstimmten.

Kristallisiert AR 15 dürfte mit α -Anhydro-digitoxigenin (XX) identisch sein. Es gab ein gut krist. Acetat. Die Analysen, Schmelzpunkte und Drehungen beider Stoffe stimmten gut mit den von *Smith*⁶⁾ angegebenen Werten überein. Auffallend war dagegen, dass Kristallisiert AR 15 bei der Hydrierung zwei Mol Wasserstoff verbrauchte¹⁾.

Kristallisiert AR 17 wird vorläufig als „ γ -Anhydro-digitoxigenin“ (XXII) bezeichnet. Es zeigte sehr ähnliche Eigenschaften wie β -Anhydro-digitoxigenin (XIV), aber eine ca. 17° stärker negative Drehung. Es gab ein gut krist. Acetat AR 20 (XXIII), das dem β -Anhydro-digitoxigenin-acetat (XV) sehr ähnlich war und mit diesem bei der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigung gab, hingegen auch eine um ca. 10° stärker negative Drehung zeigte als XV. Das Acetat AR 20 verbrauchte bei der Hydrierung 1,14 Mol Wasserstoff. Obwohl AR 17 und sein Acetat AR 20 einen einheitlichen Eindruck machten, besteht die Möglichkeit, dass es sich um unreine Präparate von XIV und XV gehandelt hat.

Kristallisiert AR 14 ist nach der Analyse ebenfalls ein Anhydro-digitoxigenin. Nach der positiven *Legal*-Reaktion und dem UV.-Absorptionsspektrum (Maximum bei ca. $212\text{ m}\mu$ und $\log \epsilon = 4,25$) enthält es den intakten Lactonring. Bei der Hydrierung verbraucht es 2,11 Mol Wasserstoff. Von den bekannten Anhydrodigitoxigeninen XX und XIV unterscheidet es sich besonders durch die starke Rechtsdrehung. Wir bezeichnen den Stoff als δ -Anhydro-digitoxigenin (XXIV). Er gab ein gut krist. Acetat (XXV), das ebenfalls eine stark positive Drehung zeigte.

Die Konstitution des Odorosids H (IX) war durch obige Abbauresultate bis auf die Verknüpfungsart zwischen Zucker und Aglykon aufgeklärt. Die relativ schwere Hydrolysierbarkeit von IX spricht eindeutig dafür, dass dieses ein Pyranosid darstellt. Die Verknüpfungsart lässt sich daher aus den molekularen Drehungen nach *Klyne*²⁾ errechnen.

Odorosid H zeigt	$[M]_D = + 32,0^\circ \pm 11^\circ$ (Methanol)
Digitoxigenin zeigt	$[M]_D = + 71,1^\circ \pm 8^\circ$ (Methanol)
Differenz = Drehungsbeitrag des Zuckeranteils . . .	$[M]_D = - 39,1^\circ \pm 19^\circ$
Unreines α -Methyl-D-digitalosid- $\langle 1,5 \rangle$ zeigte	$[M]_D = + 243^\circ \pm 6^\circ$ ³⁾
Unreines β -Methyl-D-digitalosid- $\langle 1,5 \rangle$ zeigte	$[M]_D = - 5^\circ \pm 2^\circ$ ⁴⁾

¹⁾ Für eine Wiederholung reichte die Substanzmenge nicht aus. Das Präparat wurde zusammen mit dem aus der *Mannich*-Spaltung erhaltenen XV zur Mikrohydrierung gesandt, das umgekehrt nur 1 Mol (statt der berechneten 2 Mol) Wasserstoff aufnahm. Es ist daher nicht unmöglich, dass eine Verwechslung vorlag.

²⁾ *W. Klyne*, Proc. Biochem. Soc., Biochem. J. **47**, xli (1950).

³⁾ *Ch. Tamm*, Helv. **32**, 163 (1949).

⁴⁾ *F. Reber & T. Reichstein*, Helv. **29**, 343 (1946).

Odorosid H ist somit ein β -D-Digitalosid, in Übereinstimmung mit der von *Klyne*¹⁾ aufgefundenen Regel, wonach die natürlichen digitaloiden Glykoside der D-Zucker β -Derivate sind.

Einen Einblick in die Verknüpfungsart der zwei Glucosemoleküle im Odorotriosid G (II) erhielten wir durch Acetolyse des Octacetats IV mit ZnCl_2 in Acetanhydrid. *Tschesche*²⁾ hatte mit dieser Methode aus Thevetin die α -Octacetylgentiobiose (I) erhalten. Wir erhielten denselben Stoff in relativ guter Ausbeute. Obwohl eine Isomerisierung durch ZnCl_2 in Acetanhydrid nicht völlig ausgeschlossen werden kann, ist es doch sehr wahrscheinlich, dass der Gentiobioserest in der Molekel des Glykosids vorgebildet ist, wie dies in den Formeln II, III und IV zum Ausdruck gebracht wurde. Willkürlich ist in diesen Formeln nur die Verknüpfungsstelle zwischen mittlerer Glucose und Digitaloserest³⁾. Die Isolierungsmethode erlaubt keine Aussage darüber, ob Odorotriosid G (II) in der Rinde in freier oder in teilweise acetylierter Form vorkommt. Die Isolierung von freiem Odorosid H (IX) spricht dafür, dass auch das Triosid in freier Form in der Rinde enthalten ist⁴⁾.

Tabelle II.

Substanz	Zahl der eingesetzten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg Katze
Odorotriosid-G-monoacetat (III)	10	$0,6222 \pm 0,0334^b)$
Odorobiosid-G-monoacetat (VI)	10	$0,6705 \pm 0,0835$
Odorosid H (IX)	10	$0,2000 \pm 0,0102$
Odorosid-H-monoacetat (X)	10	$0,2732 \pm 0,0185$
Thevetin		$0,889 \pm 0,0316^5)$
Thevebiosid		$1,004 \pm 0,1038^6)$
Neriifolin		$0,1961 \pm 0,0103^6)$
Neriifolin-monoacetat		$0,248 \pm 0,01^6)$

Das bisher in reiner Form unbekannte freie Odorotriosid G (II) ist mit Thevetin isomer. Letzteres enthält L-Thevetose an Stelle der in II vorhandenen D-Digitalose. In Tab. II sind die von *Chen*⁷⁾ ermittelten Toxizitäten von III, IV, IX und X für die Katze zusammen-

¹⁾ *W. Klyne*, Proc. Biochem. Soc., Biochem. **47**, xli (1950).

²⁾ *R. Tschesche*, B. **69**, 2368 (1936).

³⁾ Dass es sich auch hier höchstwahrscheinlich um β -glucosidische Bindung handelt, folgt aus dem Vergleich der Drehungen von Odorosid H (IX) und Odorobiosid G (V).

⁴⁾ Ein Beweis könnte durch Einwirkung des Ferments aus *Adenium multiflorum* oder von Strophanthobiasen auf ein Präparat von Odorotriosid G erbracht werden, das ohne Acetylierung gereinigt wurde.

⁵⁾ *K. K. Chen & A. L. Chen*, J. Pharmacol. **51**, 23 (1934).

⁶⁾ *K. K. Chen, R. C. Anderson & F. C. Henderson*, Archives int. de Pharmacodynamie et de Thérapie **74**, 81 (1950).

⁷⁾ Wir danken Herrn Dr. *K. K. Chen*, Indianapolis, bestens für die Übermittlung seiner Resultate. Er wird über die Bestimmung an anderer Stelle berichten.

gestellt; als Vergleich wurden die Werte von Thevetin und den entsprechenden Di- und Monoglykosiden angegeben.

Daraus ergibt sich, dass entsprechende Glykoside aus beiden Reihen eine sehr ähnliche Wirksamkeit besitzen. — Tab. III gibt eine Übersicht der Farbreaktionen, welche die wichtigsten der hier genannten Glykoside mit konz. H_2SO_4 geben. Die Schmelzpunkte und Drehungen sind auf der Formelseite angegeben. Die UV.-Absorptionsspektren von Odorobiosid-G-monoacetat (VI) und Odorosid-H-monoacetat (X) sind in Fig. 2 wiedergegeben.

Tabelle III.

Substanz	Formel	Farbreaktion mit konz. H_2SO_4
Odorotriosid-G-monoacetat (III)	$\text{C}_{44}\text{H}_{68}\text{O}_{19}$	hellgelb (2'), rötlichgelb (1 Std.), graurosa (3 Std.)
Odorotriosid-G-octacetat (IV)	$\text{C}_{58}\text{H}_{82}\text{O}_{26}$	gelb (2'), beige (30'), blass grau beige (1 ½ Std.)
Odorobiosid G (V)	$\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{13}$	gelb (1'), dunkelgelb (20'), orangerosa (35'), purpurviolett (1 Std.), blauviolett (1 ½ Std.), rötlich purpur (3 Std.)
Odorobiosid-G-monoacetat (VI)	$\text{C}_{38}\text{H}_{58}\text{O}_{14}$	hellgelb (15'), rötlich beige (45'), grau beige (75')
Odorobiosid-G-pentacetat (VII)	$\text{C}_{46}\text{H}_{66}\text{O}_{18}$	gelb (1'), rötlich gelb (15'), hell rötlich violett-braun (3 ½ Std.)
Odorosid H (IX)	$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_8$	citron (2'), leuchtend chromgelb (15'), hell rotbraun (1 Std.), purpur (1 ½ Std.), violett purpur (2 Std.), hell purpurgrau (3 Std.)
Odorosid-H-monoacetat (X)	$\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_9$	hell citron (2'), beige gelb (15'), rötlich beige (30'), bräunlich (1 Std.), hell schmutzig grau (1 ½ Std.)
Odorosid-H-diacetat (XI)	$\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{O}_{10}$	citron (5'), chromgelb (15'), orange rosa (30'), hell lachsfarbig (1 Std.), hell purpur (1 ½ Std.), violett purpur (2 ¼ Std.)

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 0,01 Torr und 80° getrocknet, zur Analyse, wo nichts anderes vermerkt, 3 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 . Zur Chromatographie wurde, wo nichts anderes vermerkt, jeweils die 30fache Menge alkalifreies Al_2O_3 ¹⁾ verwendet. Acetylierungen wurden nach folgendem Schema durchgeführt: 100 mg Subst. in 1,5 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³

¹⁾ Bereitet nach *J. v. Euv, A. Lardon & T. Reichstein*, *Helv.* **27**, 1292 (1944), Fussnote 2, aber reaktiviert bei $175\text{--}185^\circ$.

Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Im Vakuum bei 30° eingedampft. Rückstand in Chloroform-Äther-(1:3)¹⁾ oder reinem Chloroform gelöst, mit 2-n. HCl, Wasser, 2-n. Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingedampft.

*Legal-Probe*¹⁾²⁾ und *Tetranitromethan-Probe*²⁾ wurden nach früheren Angaben ausgeführt. H₂SO₄-Probe: 0,25—0,5 mg in Vertiefung von weisser Porzellantüpfelplatte mit 1 Tropfen konz. H₂SO₄ gut vermischen und ruhig stehenlassen. Vergleiche müssen jeweils nebeneinander genau gleichzeitig und mit derselben Säure angesetzt werden. Die Acetylbestimmungen von *A. P.* wurden nach der Methode von *Kuhn & Roth*³⁾ nach Verseifung durch 3-stündiges Kochen mit 1-n. methylalkoholischer NaOH durchgeführt. Die angegebene Verseifungszeit hat sich bisher in Vorversuchen am besten bewährt.

Extraktion der Rinde.

Das Rindenpulver (8 kg) wurde zunächst mit 130 Litern Äther (Dauer 10 Tage), dann mit 25 Litern Methanol (Methanolperkolat A) und anschliessend noch mit 100 Litern Methanol (Methanolperkolat B) (Dauer insgesamt 10 Tage) bei 20° perkoliert, worauf es nicht mehr bitter schmeckte und verworfen wurde⁴⁾.

Das Ätherperkolat gab beim Eindampfen 385 g dunkelgrünen Rückstand, dessen Trennung in einer andern Arbeit (*W. Rittel*) beschrieben wird⁵⁾.

Das Methanolperkolat A wurde im Vakuum bei 40° auf 1 Liter eingengt und lieferte nach mehrwöchigem Stehen krist. Saccharose (siehe unten). Die Mutterlauge wurde im Vakuum ganz eingedampft und gab 150,1 g (1,9%) Rückstand aus Methanolperkolat A. Das Methanolperkolat B wurde im Vakuum bei 40° auf 3,7 Liter eingengt und gab nach mehrwöchigem Stehen ebenfalls krist. Saccharose; insgesamt wurden aus beiden Methanolperkolaten 132 g rohe Saccharose in grünlichen Kristallen erhalten. Die Mutterlauge wurde im Vakuum vollständig eingedampft und gab 1032 g (13%) Rückstand aus Methanolperkolat B. Totalausbeute 1,18 kg (14,75%). Das aus beiden Methanolperkolaten erhaltene Material wurde in 5 Ansätzen wie folgt getrennt.

Die 150,1 g Rückstand aus Methanolperkolat A wurden genau wie bei Teil B (siehe unten) beschrieben mit Pb(OH)₂ (aus 1 kg Bleiacetat-trihydrat) gereinigt und ausgeschüttelt und gaben: 22,9 g (0,29%) Chloroformextrakt, 33,8 g (0,42%) Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt und 14,4 g (0,18%) Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt; im Wasser verblieben 26 g Material, so dass sich berechnen lässt, dass durch das Pb(OH)₂ etwa 53 g Material entfernt worden sind.

Die 1032 g Rückstand aus Methanolperkolat B wurden in 4 Portionen wie folgt getrennt:

236 g Methanolperkolat B (aus 1 kg Rinde) wurde in ca. 2,5 Litern 80-proz. Methanol gelöst, mit dem feuchten, frisch aus 1 kg Bleiacetat-trihydrat bereiteten und gut mit Wasser gewaschenen Pb(OH)₂ versetzt und 10 Min. energisch geschüttelt. Dann wurde durch eine gut gewaschene Schicht von Kieselgur (Hyflo Super Cel)⁶⁾ abgenutscht und mit 80-proz. Methanol nachgewaschen. Das hellgrün fluoreszierende Filtrat⁷⁾⁸⁾ wurde mit verd. HCl auf pH = 6 gebracht und im Vakuum auf 400 cm³ eingengt. Die wässrige Suspension wurde zunächst sechsmal mit je 800 cm³ Chloroform, dann zehnmal mit je 800 cm³ Chloroform-Alkohol-(9:1)-Gemisch⁹⁾ und schliesslich noch 12mal mit je 800 cm³

¹⁾ *W. A. Jacobs & A. Hoffmann*, J. Biol. Chem. **67**, 333 (1926).

²⁾ *K. Reyle & T. Reichstein*, Helv. **35**, 98 (1952).

³⁾ *R. Kuhn & M. Roth*, B. **66**, 1274 (1933).

⁴⁾ Die Perkolate wurden von den Herren Prof. *E. Schlittler* und *R. Endres* in der CIBA Aktiengesellschaft, Basel, bereitet.

⁵⁾ Siehe spätere Mitteilung.

⁶⁾ Produkt der *Johns-Manville, International Corporation*, New York, bezogen von Fa. *Schneider & Co.*, Winterthur.

⁷⁾ Dieses gab mit einer Lösung von basischem Bleiacetat keine Fällung mehr.

⁸⁾ Die Fluoreszenz wird hauptsächlich durch Scopoletin (6-Methoxy-7-oxy-cumarin) verursacht, siehe spätere Mitteilung.

⁹⁾ Verhältnis der Volumteile.

Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden in 6 Scheidetrichtern mit je 2mal 80 cm³ Wasser, 2-n. Sodalösung¹⁾ und wieder Wasser unter gutem Schütteln gründlich gewaschen. Sie wurden dann über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum bei 40° eingedampft. Aus den 4 Portionen Methanolperkolat B wurden so erhalten: 67,7 g (0,84%) grüner Chloroform-Extrakt, 101,6 g (1,27%) zitronengelber Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt und 170,9 g (2,14%) Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Die wässrige Phase und die ersten Waschwässer aus allen 5 Portionen (Methanolperkolate A+B) wurden im Vakuum vollständig eingedampft, der Rückstand (527 g) in wenig Methanol aufgenommen und mit viel abs. Äthanol versetzt, wobei eine klebrige Fällung entstand. Die klare Lösung wurde abgossen und die Fällung nochmals in heissem Methanol aufgenommen und mit viel abs. Äthanol gefällt und dies nochmals wiederholt, worauf die letzte Fällung nicht mehr bitter war und verworfen wurde²⁾. Die vereinigten Äthanol-Lösungen wurden im Vakuum eingedampft, der Rückstand (209 g) in 150 cm³ Wasser gelöst und dreimal mit je 600 cm³ Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Die wie oben gewaschenen und getrockneten Extrakte gaben insgesamt noch 8,7 g Material. Über die Ausbeuten orientiert Tab. IV.

Tabelle IV.

Übersicht der Ausbeuten aus 8 kg Rinde in g (und in %).

	Rohgewicht	Chloroform-Extrakt	Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt
Methanolperkolat A	150,1	22,9	33,8
Methanolperkolat B	1032	67,7	101,6
Gesamtausbeute aus beiden Methanolfraktionen.	1182,1	90,6 (1,13%)	135,4 (1,70%)
	Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt	Rückstand im Wasser	Verlust Pb(OH)-Niederschlag aus Differenz ber.
Methanolperkolat A	14,4	26	53,0
Methanolperkolat B	170,9	501	190,8
Nachextraktion aus beiden Methanolperkolaten	8,7	—	—
Gesamtausbeute aus beiden Methanolfraktionen.	194,0 (2,42%)	—	—

Die zuletzt verbliebene wässrige Phase und die zwei ersten Waschwässer wurden im Vakuum eingengt. Der Rückstand (ca. 200 g) schmeckte rein süß; es liess sich noch etwas Saccharose daraus isolieren.

Die Aufarbeitung des Ätherperkolats sowie der Chloroform- und Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt wird in einer späteren Arbeit (mit *W. Rittel*) beschrieben. Für die hier beschriebene Verarbeitung der Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakte wurden diese aus beiden Perkolaten vereinigt.

¹⁾ Die Sodalösungen fluoreszierten stark, sie enthielten Scopoletin.

²⁾ Das Material enthielt noch merkliche Mengen Saccharose.

Identifizierung der Saccharose.

Eine Probe der Rohkristalle wurde in Wasser gelöst, mit wenig gewaschener Tierkohle behandelt und durch ein mit etwas Kohle gedichtetes Filter genutscht. Das Filtrat wurde im Vakuum vollständig eingedampft und der farblose Rückstand aus Methanol-Äthanol umkristallisiert. Farblose Körner, Smp. 185—190° (Zers.); $[\alpha]_D^{20} = +64.8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,936$ in Wasser). Authentische Saccharose sowie die Mischprobe schmolzen gleich. Das Produkt reduzierte *Fehling'sche* Lösung in der Hitze nicht, wohl aber nach vorheriger kurzer Hydrolyse mit verd. H_2SO_4 .

Isolierung von Odorotriosid-G-octacetat (IV).

Methode A. 22,7 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt wurden an 500 g alkali-freiem Al_2O_3 chromatographisch in 29 Fraktionen zerlegt.

Die Fraktionen 1—11 (insgesamt 7,582 g, eluiert mit Chloroform-Methanol-Gemischen von 5—40%, Methanolgehalt) enthielten Nebenprodukte, die aber nicht kristallisierten. Von Fraktion 7 (1,006 g, eluiert mit Chloroform-Methanol (4:1)) wurden 374 mg acetyliert und gaben 523 mg rohes Acetat. Aus Aceton-Äther farblose Prismen und etwas Körner, Smp. 181—186° (nicht untersucht). Von Fraktion 9 (1,676 g, eluiert mit Chloroform-Methanol-(3:2)) wurden 743 mg acetyliert und gaben 984 mg rohes Acetat. Aus Aceton-Äther (feine, verfilzte Nadeln, watteähnlich), Smp. 189—193° (sintert ab 184°). (Nicht untersucht.)

Die Fraktionen 12—24¹⁾ (insgesamt 8,605 g, eluiert mit Chloroform-Methanol (35:65) und reinem Methanol) wurden mit 50 cm³ Acetanhydrid und 70 cm³ abs. Pyridin 2 Tage bei 20° acetyliert und gaben 12,9 g rohes Acetat als zitronengelben Schaum. Aus Aceton-Äther 5,07 g rohes Odorotriosid-G-octacetat (IV) in gelblichen Nadeln vom Smp. 225—231° (sintert ab 190°). Die Mutterlaugen wurden nochmals chromatographiert (siehe unten).

Die Fraktionen 25—29 (eluiert mit Methanol-Wasser von 7—50% Wassergehalt) gaben noch 4,04 g gelbes Material, das auch nach Acetylierung nicht kristallisierte.

Methode B. 16,74 g Chloroform-Äthanol-(2:1)-Extrakt wurden direkt acetyliert und das rohe Acetatgemisch (23,95 g) an 350 g Al_2O_3 ²⁾ chromatographisch in 25 Fraktionen aufgetrennt.

Die ersten zwei Fraktionen (eluiert mit Benzol-Chloroform (19:1) lieferten bereits 6,68 g gelben Schaum, der nicht kristallisierte.

Die Fraktionen 3—15 (eluiert mit Benzol-Chloroform von 5—50% Chloroformgehalt) lieferten 9,339 g hellgelben Schaum. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther und Äthanol 3,872 g Odorotriosid-G-octacetat (IV) vom Smp. 230—232°.

Aus den 194 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt wurden nach beiden Methoden insgesamt 54,9 g Rohkristalle erhalten. Zur Reinigung wurden diese für sich nochmals an 500 g Al_2O_3 chromatographiert. Umkristallisieren aus Aceton-Äther gab 39,2 g fast reines, aber noch leicht gelbstichiges Acetat vom Smp. 228—231°, das für den Abbau verwendet wurde. Schliesslich wurden auch noch sämtliche Mutterlaugen von IV (total 79,9 g) an Al_2O_3 chromatographiert und gaben ausser einigen krist. Nebenprodukten, die nicht untersucht wurden, noch weitere 16 g krist. Octacetat IV. Ausbeute total 55,2 g.

Eine Probe wurde durch erneute Chromatographie und Umkristallisieren aus Aceton-Äther vollständig gereinigt und gab farblose, kurze Prismen, Smp. 228—231°; $[\alpha]_D^{25} = -15,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,123$ in Chloroform), in guter Übereinstimmung mit dem früher beschriebenen Präparat^{b)}. Die Mischprobe schmolz gleich.

¹⁾ Durch Acetylierung von Stichproben wurde festgestellt, dass diese Fraktionen krist. Odorotriosid-G-octacetat (IV) liefern.

²⁾ Diese Menge ist für eine scharfe Trennung nicht ausreichend.

Odorotriosid-G-monoacetat (III)¹.

10 g Odorotriosid-G-octacetat wurden in 1 Liter Methanol gelöst, mit der Lösung von 10 g KHCO_3 in 250 cm³ Wasser versetzt und 10 Tage bei 20° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum bei 25° auf 100 cm³ eingengt und sechsmal mit je 800 cm³ Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Die über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen im Vakuum 7,4 g leicht gelblichen Schaum. Aus Wasser-Isopropanol in mehreren Fraktionen insgesamt 6,03 g (80%,) leicht gelbstichige Kristalle, Smp. 275–280° (Zers., sintert ab 263°). Eine Probe wurde aus Methanol-Isopropanol und Wasser-Isopropanol umkristallisiert und gab farblose Nadeldrusen, Smp. 282–284° (Zers., sintert ab 279°); $[\alpha]_D^{24} = -17,0 \pm 2^0$ ($c = 1,060$ in Methanol), in guter Übereinstimmung mit früheren Angaben^b). Das alte Präparat zeigte bei gleichzeitiger Bestimmung genau denselben Smp., ebenso die Mischprobe. Auch die Farbreaktionen mit H_2SO_4 waren gleich. Weitere 24,9 g Octacetat IV lieferten in 2 Ansätzen noch 14,56 g krist. Monoacetat III. Die Kristalle waren leicht löslich in Methanol, etwas schwerer löslich in Wasser.

Reacetylierung: 43,5 mg Monoacetat III wurden acetyliert und gaben 61 mg rohes Acetat. Aus Aceton-Äther farblose Nadeln, Smp. 227–231°, Mischprobe mit IV ebenso.

Abbau von Odorotriosid-G-monoacetat (III) mit Strophanthobiase².

9,76 g Odorotriosid-G-monoacetat (III) (leicht gelbliche Kristalle) wurden in 50 cm³ Methanol gelöst, mit 5 Litern Wasser versetzt und das Methanol im Vakuum vollständig entfernt. Dann wurden weitere 5 Liter Wasser sowie die wässrige Lösung von 13,5 g frischer Strophanthobiase³) und 50 cm³ Toluol zugegeben und nach gutem Durchmischen 5 Tage bei 32° stengelassen. Hierauf wurde in geräumigem Kolben im Vakuum bei 40° auf 200 cm³ eingengt, wobei wenig Octylalkohol zuge tropft wurde, um das Schäumen zu verhüten. Durch Zugabe von 1 Liter abs. Äthanol wurden die Proteine ausgeflockt und durch eine gut gewaschene Schicht Kieselgur (Hyflo Super Cel) abgenutscht. Die Fällung wurde aus wenig Wasser nochmals analog umgefällt und gut mit Äthanol gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum bei 40° auf 50 cm³ eingengt, mit 150 cm³ Wasser versetzt und zweimal mit je 1000 cm³ Äther, viermal mit je 1000 cm³ Chloroform, viermal mit je 1000 cm³ Chloroform-Alkohol-(9:1) und dreimal mit je 1000 cm³ Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch ausgeschüttelt. Die mit 50 cm³ Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge wurden eingedampft. Sie lieferten 0,56 g Ätherauszug, 7,1 g Chloroformauszug, 0,16 g Chloroform-Alkohol-(9:1)-Auszug und 0,13 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Auszug. (Isolierung des Zuckers aus der wässrigen Phase siehe weiter unten.)

Der letztgenannte Auszug war nicht mehr bitter und wurde verworfen. Die anderen drei Extrakte wurden vereinigt und das ganze (7,82 g) an 240 g Al_2O_3 chromatographisch in 27 Fraktionen zerlegt. Die mit Benzol-Chloroform von 20–50% Chloroformgehalt eluierten Fraktionen 1–7 gaben nur Spuren Rückstand. Die mit Chloroform sowie Chloroform-Methanol (98:2) eluierten Fraktionen 8–14 (2,387 g hellgelber Schaum) dienten zur Isolierung von Odorosid-H-monoacetat (X) (siehe unten). Die Mutterlaugen lieferten noch eine Spur Desgluco-digitalinum-verum-monoacetat. Die weiteren Fraktionen 15–27 (eluiert mit Chloroform-Methanol von 5–80% Methanolgehalt, sowie mit reinem Methanol) (insgesamt 5,175 g hellgelber Schaum) gaben aus Methanol-Chloroform-Äther 4,357 g rohes Odorobiosid-G-monoacetat in farblosen Kristallen vom Smp. 279–285° (Zers.).

Die vereinigten Eluate (2,387 g) der Fraktionen 8–14 wurden nochmals an 65 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform-(4:1) und mit demselben Gemisch

¹) Identisch mit dem früher^b) als Odorosid G bezeichneten Präparat.

²) Ein analoger Versuch wurde bereits früher von Herrn Prof. S. Rangaswami durchgeführt, aber noch nicht beschrieben.

³) Bereitet aus 310 g Samen von *Strophanthus kombé* nach J. Schmutz & T. Reichstein, Pharm. acta Helv. 22, 370 (1947).

unter Zusatz von 0,5—1% Methanol eluierten Fraktionen Nr. 4'—19' (zusammen 2,153 g) gaben nach dreimaligem Umkristallisieren aus Benzol-Äther 1,537 g reines Odorobiosid-H-monoacetat (X) in farblosen Blättchen, Smp. 227—229°; $[\alpha]_D^{17} = +9,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,031$ in Chloroform).

10,37 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,101^\circ \pm 0,02^\circ$

Analyse siehe unten bei X aus *Adenium multiflorum* Enzym Spaltung von VI.

Die mit Benzol-Chloroform-(4:1) unter Zusatz von 2% Methanol eluierten Fraktionen Nr. 20'—21' (66 mg) gaben aus Benzol-Äther ca. 30 mg Odorobiosid H in farblosen, teilweise zu Drusen vereinigten kurzen Stäbchen vom Smp. 235—238° (sintert ab 231°). Mischprobe mit Odorobiosid H (IX) ebenso, Mischprobe mit X schmolz bei 200—236°.

Die Fraktion Nr. 22' (10 mg, eluiert mit demselben Gemisch (2% Methanol)) gab aus Methanol-Äther ca. 3 mg Strosposid-monoacetat in dünnen, glänzenden Plättchen, Smp. 226—237° (Mischprobe, H₂SO₄-Färbung).

Die wässrige Phase und die ersten Waschwässer wurden im Vakuum zum Sirup eingeengt. Dieser wurde in Methanol aufgenommen, von unlöslichem Material durch Filtration befreit und die Lösung eingedampft. Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst, mit einer Spur gewaschener Kohle behandelt und erneut filtriert. Die farblose Lösung hinterliess beim Eindampfen im Vakuum 3,11 g rohe D-Glucose als leicht gelblichen Sirup, der *Fehling'sche* Lösung in der Hitze stark reduzierte¹⁾.

Odorobiosid-G-monoacetat (VI)²⁾. Umkristallisieren aus Methanol-Äther gab farblose, glänzende Plättchen, Smp. 288—294° (Zers.); $[\alpha]_D^{20} = -7,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,041$ in Chloroform-Methanol-(1:1)).

10,478 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,08^\circ \pm 0,02^\circ$

Das Analysenpräparat wurde aus Methanol-Wasser umkristallisiert, Smp. 276—286° (sintern ab 273°). Trocknung (6 Std., 100°, Einwäge im Schweinchen) gab 3,90%; 4,49% Gewichtsverlust.

3,098 mg Subst. gaben 7,05 mg CO₂ und 2,21 mg H₂O (S.W.)

3,656 mg Subst.³⁾ gaben 8,29 mg CO₂ und 2,57 mg H₂O (S.W.)

3,761 mg Subst. verbr. 1,59 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (*Zeisel-Vieböck*) (S.W.)

8,562 mg Subst. verbr. 1,095 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbestimmung) (A.P.)

C ₃₈ H ₅₈ O ₁₄	Ber. C 61,63	H 7,91	—OCH ₃ 4,20	CH ₃ CO— 5,83%
(738,84)	Gef. „ 62,10; 61,88	„ 7,98; 7,87	„ 4,37	„ 5,50%

Legal-Reaktion: positiv (rot). *Keller-Kiliani*-Reaktion: negativ (farblos). Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte ein Maximum bei 217 mμ $\log \epsilon = 4,22$ (berechnet auf C₃₈H₅₈O₁₄, getrocknete Probe) (Fig. 2, Kurve G).

Der Stoff schmeckte stark bitter. Er war in Chloroform und Methanol nur mässig löslich, leichter im Methanol-Chloroform-Gemisch. In Wasser, Aceton und Äther war er schwer löslich. Die Mischprobe mit dem Odorotriosid-G-monoacetat (III) schmolz bei 271—287° (Sintern ab 269°).

Odorobiosid-G-pentacetat (VII). 77 mg Odorobiosid-G-monoacetat (VI) gaben durch Acetylierung 107 mg rohes Acetat. Aus Aceton-Äther feine Prismen mit dreifachem Smp. 166°/222°/242°. Zur Reinigung wurde an Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform-Gemischen von 10—50% Chloroformgehalt eluierte Hauptmenge gab aus Aceton-Äther wieder kurze glänzende Prismen mit dreifachem Smp. 169°/219°/239—241°.

¹⁾ Eine Probe (330 mg) wurde in 6 cm³ Leitungswasser und 6 cm³ Hefebouillon mit Bäckerhefe vergoren. Die durch wenig Kohle geklärte Lösung war hierauf zuckerfrei.

²⁾ Eine Probe dieses Stoffes wurde auf dem hier genannten Weg bereits von Herrn Prof. S. Rangaswami hergestellt, aber noch nicht beschrieben.

³⁾ Präparat von S. Rangaswami.

Dann aus Methanol-Wasser 63 mg Nadeln, Smp. 236–239°; $[\alpha]_D^{25} = -8.9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,126$ in Chloroform).

11,333 mg Subst. zu $1,0064 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{25} = -0,10^\circ \pm 0,02^\circ$

3,878 mg Subst. gaben 8,625 mg CO_2 und 2,517 mg H_2O (ETH.)

3,469 mg Subst. gaben 7,79 mg CO_2 und 2,35 mg H_2O (S.W.)

$\text{C}_{46}\text{H}_{66}\text{O}_{18}$ (906,99) Ber. C 60,91 H 7,34% Gef. C 60,69; 61,28 H 7,26; 7,58%

Das Acetat ist leicht löslich in Chloroform und Aceton, weniger in Methanol, schwer in Äther und Wasser.

Negative Versuche zum Abbau von Digitalinum verum und Odorobiosid-G-monoacetat (VI) mit verschiedenen Enzymen.

a) *Digitalinum verum und Cellulase*. 10 g rohe Cellulase¹⁾ wurden mit 150 cm^3 Wasser und 5 cm^3 Toluol 3 Tage geschüttelt und hierauf zentrifugiert. 200 mg Digitalinum verum²⁾ wurden in 250 cm^3 Wasser gelöst, mit der aus zentrifugierten Enzymlösung und etwas Toluol versetzt und bei pH 5 (wenig Na-Acetat-Essigsäure-Puffer) 3 Tage bei 32° stehengelassen. Aufarbeitung wie bei Strophanthobiaseansatz gab 52 mg Chloroform-extrakt³⁾ und 243 mg Chloroform-Äthanol-Extrakt. Letzterer gab aus Methanol-Äther unreines Digitalinum verum in kugelförmigen Aggregaten, Smp. 233–240°.

b) *Odorobiosid-G-monoacetat (VI) und Cellulase*. 100 mg Odorobiosid-G-monoacetat (VI) in 300 cm^3 Wasser wurden mit der aus zentrifugierten Lösung aus 10 g roher Cellulase und etwas Toluol versetzt und bei pH 5 wie oben fermentiert. Aufarbeitung mit Chloroform-Alkohol-(9:1) gab 150 mg rohen Extrakt, der an $4,5 \text{ g Al}_2\text{O}_3$ chromatographiert wurde. Nur die mit Benzol-Methanol von 10–50% Methanolgehalt eluierten Fraktionen (zusammen 93 mg) gaben Kristalle. Aus Methanol-Chloroform-Äther 69 mg reines Ausgangsmaterial vom Smp. 282–288°.

c) *Digitalinum verum und Enzym aus Samen von Coronilla glauca*. 100 mg Digitalinum verum²⁾ in 250 cm^3 Wasser wurden mit 100 cm^3 Enzymlösung in 1/15-m. Phosphatpuffer (pH = 7)⁴⁾ (entsprechend 10 g Samen) versetzt, mit HCl auf pH = 6 gestellt und nach Zugabe von 4 cm^3 Toluol 4 Tage bei 35° stehengelassen. Die Aufarbeitung gab 15 mg Chloroform-Extrakt und 87 mg Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt. Beide erwiesen sich als unverändertes Ausgangsmaterial.

¹⁾ Wir danken der Schweizerischen Ferment AG., Basel, für dieses Präparat. Aktivität vgl. theoret. Teil.

²⁾ Es wurde ein von F. Hoffmann-La Roche & Co., Basel, bezogenes Handelspräparat ohne weitere Reinigung verwendet.

³⁾ Dieser dürfte hauptsächlich Verunreinigungen aus dem rohen Fermentpräparat enthalten haben.

⁴⁾ Wir danken den Herren Prof. A. Stoll und Dr. J. Renz auch hier bestens für dieses Material. Die Lösung wurde nach Angaben von Herrn Dr. J. Renz wie folgt bereitet: 500 g Samen gemahlen und mit Äther, dann mit Alkohol bei 20° extrahiert. Das getrocknete Samenpulver wurde in 6 Liter Wasser angerührt. Nach 2 Std. wurde der wässrige Extrakt, der viel Schleimstoffe, aber noch kein Enzym enthält, abzentrifugiert. Die nasse Samenmasse wurde dann mit 2,5 Litern 1/15-m. Phosphatpuffer von pH 7,0 und etwas Toluol versetzt und 14 Tage unter gelegentlichem Umschütteln bei ca. 20° stehengelassen. Dann wurde der erste Extrakt abzentrifugiert. Dieser enthielt bereits ziemlich viel Enzym. Die abzentrifugierte Samenmasse wurde dann erneut mit Phosphatpuffer angesetzt, worauf nach weiteren 2 Wochen ein zweiter Extrakt (2,5 Liter) abgetrennt wurde. 100 cm³ dieses zweiten Extraktes spalten 100 mg Scillirosid zu 80% in Scillirosidin, während der erste Extrakt nur etwa die halbe Wirksamkeit aufweist. Wir erhielten von dem zweiten Extrakt 500 cm³ (entspr. 100 g Samen, der 2 Jahre alt, gegenüber Scillirosid aber noch gut wirksam war).

d) *Odorobiosid-G-monoacetat* (VI) und Enzym aus Samen von *Coronilla glauca*. 100 mg *Odorobiosid-G-monoacetat* (VI) in 250 cm³ Wasser wurden mit 100 cm³ Enzymlösung und Zusätzen genau wie bei c) behandelt. Erhalten wurden 114 mg *Chloroform-Alkohol*-(9:1)-Extrakt, der an 3 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Die mit *Benzol-Methanol* von 1—10%, *Methanol*gehalt eluierten Fraktionen gaben nur Spuren Material (total ca. 4 mg). Die mit *Benzol-Methanol* von 20—50%, *Methanol*gehalt eluierten Anteile (78 mg) gaben aus *Methanol-Chloroform-Äther* 36 mg Ausgangsmaterial in farblosen Plättchen vom Smp. 274—282° (Mischprobe). Die Mutterlaugen gaben aus *Methanol-Chloroform-Äther* langsam noch ca. 10 mg freies *Odorobiosid G* (V) in farblosen kugeligen Drusen, Smp. 238—244° (Mischprobe). Weitere mit reinem *Methanol* und *Methanol-Chloroform-Äthylacetat* mit 1—2% *Eisessig* erhaltene Fraktionen gaben nur Spuren Rückstand.

e) *Digitalinum verum* und *Luizym*¹⁾ 2). 200 mg *Digitalinum verum* wurden in 200 cm³ Wasser gelöst mit der Lösung von 500 mg *Luizym*²⁾ in 100 cm³ Wasser und etwas *Toluol* versetzt, auf pH 5 gestellt und 3 Tage bei 32° stehengelassen. Aufarbeitung wie oben gab 19 mg *Chloroform-Extrakt* und 170 mg *Chloroform-Alkohol*-(2:1)-Extrakt. Letzterer kristallisierte und war unverändertes Ausgangsmaterial.

Abbau von *Odorobiosid-G-monoacetat* (VI) mit dem Enzym aus den Samen von *Adenium multiflorum*.

2 g *Odorobiosid-G-monoacetat* (VI) (nicht ganz analysenrein) wurden in 5 Litern Wasser gelöst mit 2 g rohem Enzympräparat³⁾ und 10 cm³ *Toluol* versetzt, mit *Essigsäure* auf pH 6 gebracht und 8 Tage verschlossen bei 32° stehengelassen. Aufarbeitung wie bei Versuch mit *Strophanthobias*, aber Ausschütteln direkt mit *Chloroform-Alkohol*-(2:1), gab 1,70 g Extrakt. Aus der wässrigen Phase wurden 335 mg *D-Glucose* als farbloser Sirup erhalten. Auf Identifizierung wurde verzichtet⁴⁾.

Chromatographie der 1,70 g *Chloroform-Alkohol-Extrakt* an 51 g Al₂O₃ gab aus den Fraktionen 2—11 (eluiert mit *Benzol-Methanol-Gemischen* von 1—5% *Methanol*gehalt) insgesamt 1,210 g Material. Dieses gab aus *Aceton-Äther* ca. 1 g fast reines *Odorobiosid-H-monoacetat* (X) vom Smp. 150°. Die Schmelze erstarrte meistens bei weiterem Erhitzen und schmolz erneut bei 225—228°.

Die Mutterlaugen der Fraktionen 7—8 (eluiert mit *Benzol* von 2 und 5% *Methanol*gehalt) gaben aus *Benzol-Äther* ca. 20 mg rohes *Odorobiosid H* (IX). Nach Umkristallisieren aus *Methanol-Äther* farblose kurze Prismen, Smp. 235—238°, Mischprobe mit IX ebenso, Mischprobe mit X schmolz bei 201—236°.

Die Mutterlaugen der Fraktionen 9—11 (eluiert mit *Benzol* von 5% *Methanol*gehalt) lieferten nach mehrmaligem Umkristallisieren aus *Methanol-Äther* noch 22 mg reines *Strospesidmonoacetat* in farblosen, dünnen, glänzenden Plättchen vom Smp. 226—237° (Sintern ab 223°).

Die Fraktionen 12—14 (eluiert mit *Benzol-Methanol*-(9:1)) gaben nur Spuren Rückstand.

Die Fraktionen 15—20 (zusammen 490 mg, eluiert mit *Benzol-Methanol* von 20—50% *Methanol*gehalt) gaben aus *Methanol-Chloroform-Äther* 378 mg reines *Odorobiosid-G-monoacetat* (VI) zurück.

Odorobiosid-H-monoacetat (X). Die aus der Spaltung von VI mit dem Enzym aus *Adenium multiflorum* erhaltenen Rohkristalle wurden zweimal aus *Benzol-Äther* umkristallisiert und gaben 806 mg farblose, feine schuppige Blättchen, Smp. 227—229°; $[\alpha]_D^{23} = +11,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,080$ in *Chloroform*).

10,869 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{23} = +0,12^\circ \pm 0,02^\circ$

1) Wir danken der Direktion des *Luitpold-Werkes*, München, auch hier für die Überlassung dieses Materials. Es war ein Roh-Enzympräparat ohne *Milchzucker*zusatz.

2) R. Tschesche, K. Sellhorn & K. W. Brathge, B. **84**, 576 (1951).

3) A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **33**, 76, 1993 (1950).

4) Die Anwesenheit von *D-Glucose* ist durch die Isolierung von *Octacetyl-gentobiose* nach *Acetolyse* von IV gesichert.

Zur Analyse wurde aus Methanol-Wasser umkristallisiert. Keine erkennbare Form, Smp. 227–228°, sintert leicht ab 195°. Trocknung der lufttrockenen Kristalle gab 3,28; 4,47; 3,59% Gewichtsverlust; Ber. für 1 Mol Kristallwasser: 3,03%.

4,032 mg Subst. gaben 9,850 mg CO₂ und 3,080 mg H₂O (OAB)

3,162 mg Subst. gaben 7,74 mg CO₂ und 2,41 mg H₂O (S.W.)

3,008 mg Subst. verbr. 1,643 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

4,086 mg Subst. verbr. 0,775 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbestimmung) (S.W.)

5,542 mg Subst. verbr. 1,000 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbestimmung)¹⁾ (A.P.)

C₃₂H₄₈O₉ Ber. C 66,64 H 8,39 —OCH₃ 5,38 CH₃CO— 7,46%
(576,70) Gef. „ 66,67; 66,80 „ 8,55; 8,53 „ 5,66 „ 8,15; 7,77%

Der Stoff ist gut löslich in Chloroform, Aceton und Benzol, etwas weniger in Methanol, schwer löslich in Äther und Wasser.

Legal-Reaktion: positiv, *Keller-Kiliani-Reaktion*: negativ; UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\max} = 217 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,19$ (berechnet auf C₃₃H₄₈O₉, H₂O) (Fig. 2, Kurve H).

Das Produkt zeigte gleiche Eigenschaften wie das Präparat aus der Strophanthobiase-Spaltung. Auch die aus beiden Präparaten erhaltenen Diacetate (XI) waren gleich.

Identifizierung von Strosposid-monoacetat (= Desgluco-digitalinum-verum-monoacetat).

Die 2 Präparate aus der Strophanthobiase- und Adenium-multiflorum-Enzym-Spaltung (zusammen 25 mg) wurden noch zweimal aus Methanol-Äther umkristallisiert. Smp. 226–237° (Zers.); $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +14,4^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (c = 0,752 in Methanol).

7,566 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{17} = +0,108^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

4,019 mg Subst. verbr. 0,88 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbestimmung nach alkalischer Verseifung) (S.W.)

C₃₂H₄₈O₁₀ (592,70) Ber. CH₃CO— 7,26% Gef. CH₃CO— 9,43%

Keller-Kiliani-Reaktion: negativ. *Legal-Reaktion*: positiv (rot). Tetranitromethan-Probe: negativ. UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte Maximum bei ca. 218 m μ und $\log \epsilon = \text{ca. } 4,2$. Authentisches Strosposid-monoacetat²⁾ zeigte Smp. 226–233° (Zers.), Kristallform Blättchen; $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +17,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (in Methanol). Die Mischprobe schmolz gleich. Auch die charakteristischen Färbungen mit 84-proz. und konz. H₂SO₄ waren gleich. Beide Präparate gaben auch sofort eine sehr intensive hell blaugrüne Fluoreszenz, wenn ca. 0,25 mg in 2 Tropfen 84-proz. H₃PO₄ unter der UV.-Lampe beobachtet wurden³⁾. Odorosid H, sein Monoacetat, sowie Digitalinum-verum-hexacetat geben diese Fluoreszenz im ersten Moment nicht. Nach längerem Stehen geben aber auch die Digitoxigenin-Derivate eine bläuliche Fluoreszenz, während die ursprünglich sehr intensive Fluoreszenz von Strosposid-monoacetat bedeutend schwächer wird (mehr blaugrün, bedingt durch die gelbe Eigenfarbe der Lösung, so dass die Unterschiede weniger gross sind).

Abbau von Odorobiosid-G-monoacetat (VI) mit Schneckenferment.

100 mg Odorobiosid-G-monoacetat (VI) wurden in 300 cm³ Wasser gelöst, mit 300 mg Ferment-Trockenpräparat⁴⁾ und 3 cm³ Toulol versetzt und nach gutem Durchmischen 4 Tage bei 32° stehengelassen. Im Vakuum auf 20 cm³ eingengt, Proteine mit 100 cm³ abs. Alkohol gefällt und abgenutzt. Filtrat im Vakuum auf 20 cm³ eingedampft und viermal mit je 65 cm³ Chloroform-Alkohol-(9:1) ausgeschüttelt. Wie üblich ge-

¹⁾ Alkalisch verseift.

²⁾ Vgl. W. Rüttel, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 434 (1952).

³⁾ Vgl. A. Petit, M. Pesez, P. Bellet & G. Amiard, Bl. **1950**, 288; P. Bellet, Annales Pharmac. franç. **8**, 471 (1950). Diese Autoren fanden, dass Honghelin auch eine Fluoreszenz liefert.

⁴⁾ H. Huber, F. Blindenbacher, K. Mohr, P. Speiser & T. Reichstein, Helv. **34**, 46 (1951).

waschen, getrocknet und eingedampft gab es 100 mg rohen Extrakt. Die wässrige Phase wurde nicht untersucht. Die 100 mg Extrakt wurden an 3 g Al_2O_3 chromatographisch in 17 Fraktionen getrennt.

Die Fraktionen 1—6 (30 mg, eluiert mit Benzol-Methanol von 5—10% Methanolgehalt) gaben aus Benzol-Äther, dann aus Methanol-Äther 11 mg reines Odorosid H in farblosen Prismen, Smp. 235—238° (Sintern ab 230°).

Die Fraktionen 7—10 gaben nur Spuren Rückstand.

Die mit Benzol-Methanol-Gemischen von 20—50% Methanolgehalt und reinem Methanol eluierten Fraktionen Nr. 11—17 (zusammen 60 mg) gaben aus Methanol-Chloroform-Äther 52 mg Odorobiosid G (V) in farblosen, etwas gallertigen oder blumenkohlartigen Drusen, Smp. 233—243°.

Odorobiosid G (V).

Obige Kristalle wurden nochmals chromatographiert und erneut aus Methanol-Chloroform-Äther umkristallisiert. V scheidet sich zunächst leicht gallertig oder in blumenkohlartigen Drusen ab. Beim Stehen entstehen zu Drusen vereinigte schuppige Blättchen. Smp. 243—245°; $[\alpha]_D^{15} = -7,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,102$ in Methanol).

11,092 mg Subst. zu $1,0064 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{15} = -0,081^\circ \pm 0,02^\circ$

Gewichtsverlust bei Trocknen 3,65%.

4,223 mg Subst. gaben 9,550 mg CO_2 und 3,100 mg H_2O (A.P.)

$\text{C}_{30}\text{H}_{56}\text{O}_{13}$ (696,81) Ber. C 62,05 H 8,10% Gef. C 61,71 H 8,21%

Der Stoff ist gut löslich in Methanol, weniger in Chloroform, sehr schwer löslich in Wasser und Äther. Die Mischprobe mit dem Monoacetat VI schmolz bei 239—276°.

Odorosid H (IX).

a) Aus VI mit *Schneckenferment*. Obige 11 mg Kristalle zeigten Smp. 235—238°; $[\alpha]_D^{18} = +8,7^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,887$ in Chloroform).

8,927 mg Subst. zu $1,0064 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{18} = +0,077^\circ \pm 0,02^\circ$

Zuckernachweis¹⁾: positiv.

b) Aus Odorosid-H-monoacetat (X) und *Schneckenferment*. 100 mg Odorosid-H-monoacetat (X) wurden in 25 cm^3 Methanol gelöst, mit 1,5 Litern heissem Wasser versetzt und das Methanol im Vakuum vollständig entfernt. Dann wurden 2 g *Schneckenferment* Trockenpräparat sowie 10 cm^3 Toluol zugegeben und 3 Tage bei 32° stehengelassen.

Aufarbeitung wie bei Abbau von VI (siehe oben), aber Ausschütteln mit reinem Chloroform gab 122 mg Rohprodukt. Dieses wurde an 3,1 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform-(4:1)-Gemischen mit Zusatz von 0,5—2% Methanol eluierten Anteile (107 mg) gaben aus Benzol-Äther, dann aus Methanol-Äther 83 mg farblose Quader oder flache, kurze Prismen, Smp. 235—238° (sintert ab 230°); $[\alpha]_D^{20} = +6,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,968$ in Methanol).

9,741 mg Subst. zu $1,0064 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{20} = +0,058^\circ \pm 0,02^\circ$

Trocknung zur Analyse 5 Std., Gewichtsverlust 3,65%.

3,775 mg Subst. gaben 9,304 mg CO_2 und 2,962 mg H_2O (A.P.)

7,433 mg Subst. verbr. $0,035 \text{ cm}^3$ 0,01-n. NaOH (Acetylbestimmung) (A.P.)

$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_8$ Ber. C 67,39 H 8,67 CH_3CO — 0%
(534,67) Gef. „ 67,26 „ 8,78 „ 0,20%

c) Durch Verseifung von Odorosid-H-monoacetat (X) mit Bariummethylat. 100 mg Odorosid-H-monoacetat (X) wurden in 4 cm^3 abs. Methanol gelöst, mit 4 cm^3 0,00727-n. Lösung von BaO in abs. Methanol versetzt, 2 Std. bei 18° und anschliessend noch 14 Std. bei 2° stehengelassen. Die Lösung reagierte dann eben noch alkalisch auf Phenolphthalein. Dann wurde mit CO_2 neutralisiert, eingeeengt, filtriert und im Vakuum eingedampft. Der

¹⁾ P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. 34, 1740 (1951).

Rückstand (106 mg) wurde an 3 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform-(4:1) unter Zusatz von 0,5% Methanol eluierten Fraktionen Nr. 5–12 (67 mg) gaben aus Benzol-Äther-Petroläther ca. 30 mg farblose schuppige Blättchen, Smp. 225–229°. Nach Mischprobe identisch mit Ausgangsmaterial X. Die mit Benzol-Chloroform-(4:1) unter Zusatz von 1% Methanol eluierten Fraktionen 13–20 (40 mg) gaben aus Benzol-Äther-Petroläther, dann Aceton-Äther und Methanol-Äther 32 mg dicke, klare, flache Prismen, teilweise mit sechseckigen Umrissen. Smp. 234–238° (Sintern ab 220°); $[\alpha]_D^{21} = +5,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,927$ in Methanol).

9,332 mg Subst. zu $1,0064 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{21} = +0,051^\circ \pm 0,02^\circ$

3,341 mg Subst. gaben 8,25 mg CO_2 und 2,61 mg H_2O (S.W.)

$\text{C}_{30}\text{H}_{16}\text{O}_8$ (534,67) Ber. C 67,39 H 8,67% Gef. C 67,38 H 8,74%

Odorosid H ist gut löslich in Chloroform, Methanol und Aceton, weniger in Benzol, sehr schwer in Wasser und Äther. Es war identisch mit dem direkt aus der Rinde isolierten Präparat¹⁾.

d) *Durch Verseifung von X mit KHCO_3* . 50 mg Odorosid-H-monoacetat (X) wurden in 10 cm^3 Methanol gelöst, mit der Lösung von 50 mg KHCO_3 in $2,5 \text{ cm}^3$ Wasser versetzt und 10 Tage bei 20° stehengelassen. Nach Eindampfen im Vakuum auf 2 cm^3 wurde mit Chloroform ausgeschüttelt. Der Extrakt (46 mg) wurde an 2 g Al_2O_3 chromatographiert, wobei schwer trennbare Gemische resultierten, aus denen sich die vier folgenden Kristallisate isolieren liessen.

Aus den Fraktionen 4–5 (eluiert mit Benzol+1% Methanol) nach Umkristallisieren aus Benzol-Äther-Petroläther und Methanol-Äther-Petroläther wenige mg zugespitzte, dünne, glänzende Plättchen, Smp. 264–276° (Zers. unter Gelbfärbung).

Legal-Reaktion: negativ, mit Tetranitromethan keine Färbung. Nach Mischprobe und Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 könnte es sich um Iso-digitoxigenin handeln.

Die Fraktionen 6–7 gaben aus Benzol-Äther-Petroläther wenig Ausgangsmaterial (X) in Drusen vom Smp. 224–228° (Mischprobe, Farbreaktionen).

Aus den Fraktionen 8–9 (eluiert mit Benzol+1% Methanol) nach 3maligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther wenige mg kleine rechteckige Plättchen, Smp. 243–251° (Zers.). *Legal-Reaktion*: negativ, mit Tetranitromethan keine Färbung. Nach Mischprobe und Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 identisch mit Iso-odorosid H (VIIIb).

Die Fraktionen 10–23 (eluiert mit Benzol+1–5% Methanol) gaben nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Benzol-Äther-Petroläther 7,5 mg reines Odorosid H in kleinen, dicken Plättchen, Smp. 238–250° (Sintern ab 235°) (Mischprobe, Farbreaktionen).

Odorosid-H-diacetat (XI).

100 mg Odorosid-H-monoacetat (X) wurden acetyliert und das Rohprodukt (126 mg) chromatographiert, wobei aber keine sichtbare Trennung eintrat. Aus Benzol-Äther-Petroläther 60 mg farblose, zu Drusen vereinigte sechseckige langgestreckte Plättchen (makroskopisch wie Nadelbüschel). Viermaliges Umkristallisieren aus Aceton-Äther, Benzol-Äther-Petroläther und Methanol-Äther gab klare, langgestreckte Plättchen, Smp. der Hauptmenge ca. 239–244° (Zers.), letzte Reste oft bis 252° (vielleicht liegt Umwandlung und Doppel-Smp. vor); $[\alpha]_D^{21} = +10,0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,829$ in Chloroform).

8,346 mg Subst. zu $1,0064 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{21} = +0,083^\circ \pm 0,02^\circ$

4,614 mg Subst. gaben 11,170 mg CO_2 und 3,295 mg H_2O (OAB)

7,777 mg Subst. verbr. $2,350 \text{ cm}^3$ 0,01-n. NaOH (Acetylbestimmung) (A.P.)

$\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{O}_{10}$ Ber. C 66,00 H 8,15 $-\text{COCH}_3$ 13,91%

(618,74) Gef. „ 66,06 „ 7,99 „ 13,01%

Authentisches Odorosid-H-diacetat¹⁾ zeigte nach gleichem Umkristallisieren dieselben Eigenschaften. Auch die Mischprobe schmolz gleich. Ferner waren die IR.-Spektren identisch.

¹⁾ Siehe spätere Mitteilung.

Iso-odorosid H (VIIIa und VIIIb).

100 mg Odorosid-H-monoacetat (X) in 10 cm³ Methanol wurden mit der Lösung von 100 mg KOH in 4 cm³ Wasser 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde im Vakuum auf 3 cm³ eingengt und mit HCl bis zur eben kongersauren Reaktion versetzt. Der ausfallende weisse Niederschlag wurde mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Rohprodukt (110 mg farbloser Schaum) kristallisierte nur langsam in verschiedenen Formen. Durch fraktionierte Kristallisation aus Methanol-Äther, Aceton-Äther und Methanol-Wasser sowie durch mechanisches Aussuchen unter der Lupe liessen sich zwei Kristallsorten erhalten.

a) Dicke, fast quadratische Plättchen (VIIIa), Smp. 260—268° (Zers.); $[\alpha]_D^{16} = -6,9^0 \pm 3^0$ ($c = 0,924$ in Chloroform).

9,293 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = -0,064^0 \pm 0,02^0$

Trocknung zur Analyse 5 Std. 100°, kein Gewichtsverlust, aschefrei.

3,409 mg Subst. gaben 8,479 mg CO₂ und 2,647 mg H₂O (A. P.)

C₃₀H₄₆O₈ (534,67) Ber. C 67,39 H 8,67% Gef. C 67,87 H 8,69%

b) Lange Nadelbüschel (VIIIb), Smp. 249—256° (Zers.); $[\alpha]_D^{15} = -6,4^0 \pm 3^0$ ($c = 0,904$ in Chloroform).

9,095 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = -0,058^0 \pm 0,02^0$

Trocknung zur Analyse wie oben gab 3,03% Gewichtsverlust, aschefrei.

2,114 mg Subst. gaben 5,214 mg CO₂ und 1,685 mg H₂O (A. P.)

C₃₀H₄₆O₈ (534,67) Ber. C 67,39 H 8,67% Gef. C 67,31 H 8,92%

Legal-Reaktion: bei beiden Formen negativ. Das UV.-Absorptionsspektrum von VIIIa zeigte zwischen 210 und 360 μ keine selektive Absorption. Die Färbung mit konz. H₂SO₄ war bei beiden Formen praktisch gleich: hell citron (5'), gelbbraunlich (15'), beige-braun (30'), braun-violett (1 Std.), violett (1 $\frac{1}{2}$ —2 Std.). Durch Impfen liessen sich bisher aber die beiden Formen nicht in einander überführen.

Spaltung von Odorosid-H-monoacetat (X) mit HCl in Aceton.

200 mg Odorosid-H-monoacetat (X) wurden in 25 cm³ Aceton gelöst, mit 0,25 cm³ konz. HCl versetzt und 11 Tage bei 18° stengelassen. Dann wurde die leicht gelbliche Lösung mit 25 cm³ Wasser versetzt und im Vakuum auf 25 cm³ eingengt. Nach Zusatz von 25 cm³ Methanol wurde 30 Min. unter Rückfluss gekocht und anschliessend im Vakuum bei 25° wieder auf 20 cm³ eingengt. Die trübe Lösung wurde dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge lieferten beim Eindampfen 192 mg Rückstand.

Die saure wässrige Phase wurde durch kurzes Schütteln mit reinem Ag₂CO₃ neutralisiert und durch ein mit Ag₂CO₃ gedichtetes Filter genutscht. Das klare Filtrat wurde bei 0° kurz mit H₂S behandelt und durch ein mit wenig gewaschener Kohle gedichtetes Filter genutscht. Das fast farblose Filtrat wurde im Vakuum vollständig eingedampft. Der Rückstand mit wenig Methanol verflüssigt, mit abs. Äthanol versetzt und von wenig Flocken abfiltriert. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der getrocknete Rückstand in Aceton aufgenommen und die erneut filtrierte Lösung im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (26 mg fast farbloser Sirup) zeigte $[\alpha]_D^{17} = +97,1^0 \pm 2^0$ ($c = 1,042$ in Wasser nach 24 Std.).

10,483 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +1,012^0 \pm 0,02^0$

Der Sirup gab aus Aceton-Äther-Petroläther nach Impfen mit authentischer Digitalose Kristalle vom Smp. 116—126°. Die Mischprobe gab keine Depression.

Die 192 mg Chloroformextrakt wurden an 6 g Al₂O₃ chromatographiert.

Die ersten zwei mit reinem Benzol eluierten Fraktionen gaben nur Spuren amorphen Materials.

Die Fraktionen 3—9 (zusammen 40 mg, eluiert mit Benzol-Chloroform von 10–20% Chloroformgehalt) gaben nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther-Petroläther, dann aus Benzol-Äther-Petroläther 27 mg reines β -Anhydrodigitoxigenin (XIV).

Die Fraktionen 10—13 (zusammen 82 mg, eluiert mit Benzol-Chloroform-(4:1) unter Zusatz von 0,5% Methanol) gaben aus Benzol-Äther-Petroläther nach zweimaligem Umkristallisieren zunächst 26 mg β -Anhydro-odorosid-H-monoacetat (XII). Die Mutterlauge lieferte teilweise andere Kristalle, die nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther-Petroläther 11 mg reines Digitoxigenin (XVIII) ergaben, sowie noch einige mg etwas weniger reines Material.

Die Fraktionen 14—19 (zusammen 49 mg, eluiert mit Benzol-Chloroform-(4:1) unter Zusatz von 1% Methanol) gaben aus Benzol-Äther 21 mg reines Ausgangsmaterial X (Kristallform, Mischprobe, H_2SO_4 -Reaktion). Aus der Mutterlauge konnten noch 3 mg Kristalle vom Smp. 170—180° isoliert werden, die mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung gaben und nicht identifiziert werden konnten.

Die Fraktionen 20—23 (zusammen 9 mg, eluiert mit Benzol-Chloroform-(4:1) unter Zusatz von 2% Methanol) gaben aus Benzol-Methanol-Äther 3 mg reines Odorosid H (IX) (Kristallform, Mischprobe, H_2SO_4 -Reaktion).

Identifizierung von β -Anhydro-digitoxigenin (XIV) aus obiger Spaltung.

Glasklare, längliche Klötzchen mit starkem Glanz, Smp. 184—192°; $[\alpha]_D^{16} = -10,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,970$ in Chloroform).

9,762 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = -0,103^\circ \pm 0,02^\circ$

4,412 mg Subst. gaben 12,520 mg CO₂ und 3,547 mg H₂O (OAB)

C₂₃H₃₂O₃ (356,49) Ber. C 77,49 H 9,05% Gef. C 77,44 H 9,00%

Legal-Reaktion: stark positiv (rot). Tetranitromethan gab deutliche Gelbfärbung. Authentisches β -Anhydro-digitoxigenin¹⁾ (kristallisiert aus Aceton-Äther), sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich, auch die Farbreaktionen mit H_2SO_4 waren gleich.

Acetat XV. 16 mg obiger Kristalle wurden mit Pyridin-Acetanhydrid 2 Tage bei 25° acetyliert. Das Rohprodukt (22 mg) gab nach dreimaligem Umkristallisieren aus Benzol-Äther-Petroläther 12 mg Nadeln, Smp. 180—182° (sintert ab 178°); $[\alpha]_D^{19} = -18,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,861$ in Chloroform²⁾).

8,664 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,163^\circ \pm 0,02^\circ$

3,261 mg Subst. gaben 9,016 mg CO₂ und 2,400 mg H₂O (OAB)

3,217 mg Subst. verbr. 0,205 cm³ H₂ (23,8°; 728 Torr) (Mikrohydrierung mit Pt in Eisessig; auch nach 6 Std. konstant) (A.P.)

C₂₅H₃₄O₄ Ber. C 75,34 H 8,60% D.Z. = 2,0

(398,52) Gef. „ 75,45 „ 8,24% „ = 1,0³⁾

Der Stoff gab mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Authentisches β -Anhydrodigitoxigenin-acetat (XV)⁴⁾ sowie die Mischprobe schmolzen gleich. Auch die Färbungen mit H_2SO_4 waren gleich.

Hydrierung von β -Anhydro-digitoxigenin-acetat (XV). Authentisches β -Anhydro-digitoxigenin-acetat (XV)⁴⁾ wurde genau wie oben hydriert.

6,871 mg Subst. verbr. 0,822 cm³ H₂ (22,5°; 726 Torr) (Mikrohydrierung (A.P.))

Es wurde 5½—6 Std. hydriert. Erste Doppelbindung wurde sehr rasch hydriert, nach 4 Std. trat keine weitere H₂-Aufnahme ein.

C₂₅H₃₄O₄ (398,52) Ber. D.Z. = 2 Gef. D.Z. = 1,89

¹⁾ Smith^e) fand für diesen Stoff (nach Umkristallisieren aus Essigester) Smp. 202° und $[\alpha]_D^{20} = -13,3^\circ$ ($c = 2,05$ in Methanol).

²⁾ Smith^e) fand für dieses Acetat (nach Umkristallisieren aus Methanol-Wasser) Smp. 185°.

³⁾ Vgl. Anm. 1, S. 695.

⁴⁾ Bereitet nach H. Hunziker & T. Reichstein^{g)}.

β -Anhydro-odorosid-H-monoacetat (XII)¹.

Aus Benzol-Äther Petroläther zu Drusen vereinigte dünne, längsgestreifte Nadeln. Smp. 220—224°; $[\alpha]_D^{17} = -5,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,092$ in Chloroform-Methanol (1:1)).

10,989 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,058^\circ \pm 0,02^\circ$

Gewichtsverlust nach Trocknung (5 Std. 100°) 0,18%.

3,324 mg Subst. gaben 8,41 mg CO₂ und 2,52 mg H₂O (S.W.)

C₃₀H₄₄O₇ (516,65) Ber. C 69,74 H 8,58%

C₃₂H₄₆O₈ (558,69) Ber. „ 68,79 „ 8,30% Gef. C 69,46 H 8,54%

Der Stoff gab mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Farbreaktion mit konz. H₂SO₄: blassgelb (im ersten Moment), citron (1—2'), leuchtend gelb (5'), chromgelb (10—30'), hellbraun mit Orangestich (1 Std.), hell graubraun (2 Std.), hellgrau (3 Std.). Das UV.-Absorptionsspektrum zeigte in Alkohol ein Maximum bei 217 m μ und $\log \varepsilon = 4,20$ (ber. auf C₃₂H₄₆O₈).

 β -Anhydro-odorosid-H-diacetat (XIII) aus obigen Kristallen.

17 mg obiger Kristalle wurden mit Pyridin-Acetanhydrid (2 Tage, 25°) acetyliert. Das Rohprodukt (22 mg) gab aus Benzol-Äther-Petroläther 10 mg zu Drusen vereinigte, rhombische Plättchen, Smp. 216—220°; $[\alpha]_D^{16} = -10,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,908$ in Chloroform).

9,153 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = -0,092^\circ \pm 0,02^\circ$

3,232 mg Subst. gaben 8,03 mg CO₂ und 2,34 mg H₂O (S.W.)

3,518 mg Subst. verbr. 0,290 cm³ H₂ (23,2°; 730 Torr) (Hydrierung mit Pt in Eisessig; nach 6 Std. konstant) (A.P.)

C₃₄H₄₈O₉ Ber. C 67,98 H 8,05% D.Z. = 2,0

(600,72) Gef. „ 67,80 „ 8,03% „ = 1,95

Der Stoff gab mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung.

Identifizierung von Digitoxigenin (XVIII) aus obiger Spaltung.

Aus Methanol-Äther-Petroläther 11 mg vielflächige körnige Kristalle, teilweise Zwillinge, Smp. 252—255° (Sintern ab 240°); $[\alpha]_D^{17} = +17,3^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,849$ in Methanol)².

8,542 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,147^\circ \pm 0,02^\circ$

Trocknung (6 Std. 80°) gab 0,22% Gewichtsverlust.

2,732 mg Subst. gaben 7,38 mg CO₂ und 2,29 mg H₂O (S.W.)

C₂₃H₃₄O₄ (374,50) Ber. C 73,76 H 9,15% Gef. C 73,72 H 9,38%

Die Tetranitromethan-Probe war negativ. Authentisches, frisch umkristallisiertes Digitoxigenin sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich. Auch die Farbreaktionen mit H₂SO₄ waren gleich.

Acetat XIX. 13 mg obiger Kristalle (reine sowie zweiter Qualität) wurden mit Acetanhydrid-Pyridin (2 Tage bei 25°) acetyliert. Das Rohprodukt (17 mg) gab nach dreimaligem Umkristallisieren aus Benzol-Äther-Petroläther und Aceton-Äther 10 mg klare, dicke, sechseckige Plättchen, Smp. 218—223° (Sintern ab 212°); $[\alpha]_D^{16} = +18,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,978$ in Chloroform).

9,841 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,178^\circ \pm 0,02^\circ$

¹) Es ist nicht bewiesen, dass ein Monoacetat vorlag; es könnte sich auch um die acetylfreie Verbindung handeln.

²) A. Windaus & G. Stein⁴) fanden für Digitoxigenin Smp. 250°; $[\alpha]_D^{17} = +19^\circ$ (in Methanol).

Trocknung (5 Std. 80°) gab 0,60% Gewichtsverlust.

3,336 mg Subst. gaben 8,86 mg CO₂ und 2,63 mg H₂O (S.W.)

C₂₅H₃₆O₅ (416,54) Ber. C 72,08 H 8,71% Gef. C 72,48 H 8,82%

Die Tetranitromethanprobe war negativ. Authentisches, frisch bereitetes Digitoxigenin-acetat sowie die Mischprobe schmolzen gleich¹⁾.

Energische Hydrolyse von Odorosid-H-monoacetat (X) mit HCl in Essigsäure.

1 g Odorosid-H-monoacetat (X) wurde mit 30 cm³ des von *Kiliani*²⁾ empfohlenen Gemisches von 3,5 Teilen Eisessig, 5,5 Teilen Wasser und 1 Teil konz. HCl 1 Std. auf 100° erhitzt. Dann wurde mit 30 cm³ Wasser versetzt, im Vakuum auf 30 cm³ eingengt und viermal mit je 60 cm³ Chloroform-Äther (1:2) ausgeschüttelt. Die mit Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 0,7 g Anhydrogenin-Gemisch als leicht gelbliches Harz.

Die wässrige Phase wurde genau so behandelt wie bei der Isolierung von Digitalose aus der Spaltung mit HCl in Aceton und gab 268 mg rohe, trockene acetonlösliche Digitalose als farblosen Sirup.

Identifizierung der Digitalose (aus der Spaltung mit HCl in Essigsäure).

Die 268 mg Rohprodukt gaben aus trockenem Aceton-Äther (mit Spur Petroläther) nach Impfen 186 mg Kristalle. Zur Reinigung wurde in wenig abs. Alkohol gelöst, im Vakuum vollständig eingedampft und aus Aceton-Äther (Impfen) kristallisiert. Derbe, farblose Spiesse, Smp. 119–131° (Sintern ab 109°). Aus Essigester Smp. 118–126° (Sintern ab 113°); $[\alpha]_D^{18} = +88,9^{\circ}$ (nach 9 Min.) $\rightarrow +105,8^{\circ}$ (nach 2½–24 Std.)³⁾ (c = 1,040 in Wasser).

10,470 mg Subst. zu 1,0064 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{18} = +0,925^{\circ}$ (9') $\rightarrow 1,10^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$ (2½–24 Std.)

Trocknung 24 Std. bei 20° und 0,01 Torr über P₂O₅ (Schweinchen).

2,991 mg Subst. gaben 5,180 mg CO₂ und 2,153 mg H₂O (OAB)

C₇H₁₄O₅ (178,18) Ber. C 47,18 H 7,92% Gef. C 47,26 H 8,06%

Authentische Digitalose aus Emicymarin (grobe, flache Spiesse aus Essigester) zeigte Smp. 122–133° (Sintern ab 114°) und $[\alpha]_D^{18} = +86,8^{\circ}$ (nach 8') $\rightarrow +106,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (nach 6½–24 Std.) (c = 1,296 in Wasser). Als Anfangsdrehung liess sich ein Wert von ungefähr $+78^{\circ} \pm 4^{\circ}$ extrapolieren. Die Mischprobe schmolz gleich.

Digitalonsäurelacton. 88 mg leicht gelbliche Mutterlauge (von obigen Digitalose-kristallen), die möglicherweise noch Digitalose-monoacetat enthielten, wurden in 2 cm³ Wasser gelöst, mit 0,1 cm³ Br₂ versetzt, 1 Std. geschüttelt und anschliessend 24 Std. bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Dann wurde das überschüssige Br₂ im Vakuum entfernt, die Lösung in üblicher Weise mit Ag₂CO₃, dann kurz mit H₂S und schliesslich mit etwas gewaschener Kohle behandelt. Die farblose Lösung wurde im Vakuum eingedampft, mit verd. Ba(OH)₂-Lösung bis zur bleibend alkalischen Reaktion versetzt und zur Verseifung von Acetylgruppen 6 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit verd. H₂SO₄ neutralisiert, aufgekocht und in der Siedehitze die Ba-Ionen mit verd. H₂SO₄ genau ausgefällt und das BaSO₄ über einer Spur gewaschener Kohle abfiltriert. Das klare Filtrat, das keine nachweisbaren Mengen von Ba- und SO₄-Ionen enthielt, wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand im Molekularkolben bei 0,01 Torr und 100–160° Badtemperatur

¹⁾ *S. Rangaswami & T. Reichstein*¹⁾ fanden Smp. 222°/227° und $[\alpha]_D^{17} = +19,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (Chloroform). Bei obigen Kristallen wurde kein Doppel-Smp. beobachtet.

²⁾ *H. Kiliani*, B. **63**, 2866 (1930).

³⁾ *Lamb & Smith*^{c)} fanden für Digitalose Smp. 106° (frisch bereitete) bzw. Smp. 119° (nach 4 Monaten) und $[\alpha]_D = +106^{\circ}$ (nach 17 Std.; c = 1,7 in Wasser).

destilliert. Das Destillat (60 mg) gab aus Methanol-Äther farblose Prismen, Smp. 138–39° $[\alpha]_D^{20} = -89,8^\circ (9') \rightarrow -83,4^\circ \pm 2^\circ (2-21 \text{ Std.})$ ($c = 0,935$ in Wasser¹⁾).

9,410 mg Subst. zu $1,0064 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{20} = -0,84^\circ (9') \rightarrow -0,78^\circ \pm 0,02^\circ (2-21 \text{ Std.})$

Trocknung 24 Std. bei 0,01 Torr und 40°, Schweinchen.

3,308 mg Subst. gaben 5,713 mg CO_2 und 2,039 mg H_2O (OAB)

$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_5$ (176,17) Ber. C 47,72 H 6,87% Gef. C 47,13 H 6,90%

Authentisches Digitalonsäurelacton und die Mischprobe schmolzen gleich.

Trennung des Gemisches der Anhydrogenine (aus der Spaltung mit HCl in Essigsäure).

Die 0,7 g Material wurden an einer mit Benzol bereiteten Säule von 21 g Al_2O_3 chromatographisch in 24 Fraktionen zerlegt, wobei insgesamt 629 mg Material eluiert wurden. Fraktion 1 (eluiert mit reinem Benzol) gab nur Spuren Öl (verworfen).

Die Fraktionen 2 und 3 (zusammen 134 mg, eluiert mit Benzol + 5% Chloroform) gaben nach dreimaligem Umkristallisieren aus Benzol-Äther-Petroläther 22 mg Kristallisat AR6K als farblose, langgestreckte Plättchen, Smp. 166–171° (Sintern ab 150°). Die Mutterlauge gab noch 50 mg Kristalle vom gleichen Habitus aber Smp. 136–158°.

Fraktion 4 (97 mg, eluiert mit demselben Gemisch) gab keine Kristalle.

Fraktion 5 (107 mg) und Fraktion 6 (26 mg) (eluiert mit demselben Gemisch) gaben aus Äther, dann aus Methanol-Äther zunächst zusammen 28 mg „Kristallisat AR 15“ in dicken Stäbchen oder Plättchen vom Smp. 220–229° (Zers., Sintern ab 210°). Die Mutterlauge von Fraktion 5 gab aus Äther 16 mg „Kristallisat AR 17“ in kantigen, stark lichtbrechenden Klötzchen, Smp. 186–198°.

Die Fraktionen 7–13 (zusammen 132 mg, eluiert mit Benzol-Chloroform-Gemischen von 5–20% Chloroformgehalt) gaben aus Äther-Petroläther 97 mg „Kristallisat AR 14“ in derben langen Prismen, Smp. 142–144°.

Die weiteren mit Benzol-Chloroform (4:1) unter Zusatz von 0,5, 1, 2, 5 und 10% Methanol eluierten Fraktionen 14–24 gaben nur Spuren von verschiedenen Kristallen.

Versuch zur Identifizierung der vier Kristallisate.

Kristallisat AR6K. Aus Äther-Petroläther langgestreckte Plättchen, Smp. 166–171° (Sintern ab 158°); $[\alpha]_D^{19} = -7,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,840$ in Chloroform).

8,451 mg Subst. zu $1,0064 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{19} = -0,064^\circ \pm 0,02^\circ$

Trocknung 3 Std. bei 0,01 Torr und 50°, Schweinchen, kein Gewichtsverlust.

2,691 mg Subst. gaben 7,441 mg CO_2 und 2,111 mg H_2O (A. P.)

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_4$ (398,52) Ber. C 75,34 H 8,60% Gef. C 75,46 H 8,78%

Tetranitromethan-Probe: positiv (gelb). Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte ein Maximum bei ca. 211 m μ und $\log \epsilon = 4,25$ (berechnet auf M = 398,52). Die Mischprobe mit authentischem β -Anhydro-digitoxigenin-acetat (XV) vom Smp. 177–182° schmolz bei 166–180°. Die Farbreaktionen mit H_2SO_4 waren praktisch gleich.

Zur Kontrolle wurden 12 mg Kristallisat AR6K mit Pyridin-Acetanhydrid acetyliert. Dreimaliges Umkristallisieren aus Äther-Petroläther gab 7,5 mg dicke lanzettförmige Kristalle (AR 24), Smp. 175–180°; $[\alpha]_D^{16} = -20,0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,691$ in Chloroform).

6,957 mg Subst. zu $1,0064 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{16} = -0,138^\circ \pm 0,02^\circ$

Mischprobe mit AR6K schmolz bei 156–180°, die Mischprobe mit authentischem β -Anhydro-digitoxigenin-acetat (XV) schmolz bei 175–180°. Obwohl AR 24 etwas andere Kristallform zeigt als XV, dürften sie identisch sein. AR6K ist daher wahrscheinlich nicht ganz reines XIV oder XV gewesen.

¹⁾ Lamb & Smith^{c)} fanden für diesen Stoff Smp. 137–138°; $[\alpha]_D^{19} = -83^\circ$ ($c = 3,23$ in Wasser).

Kristallisiert AR 15. Aus Methanol-Äther farblose Stäbchen und Plättchen, Smp. 220–229° (Zers., Sintern ab 210°); $[z]_D^{20} = +40,8^0 \pm 2^0$ ($c = 0,980$ in Chloroform).

9,859 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,40^0 \pm 0,02^0$

Trocknung 3 Std. bei 0,01 Torr und 50°, Schweinchen, kein Gewichtsverlust, aschefrei.

3,010 mg Subst. gaben 8,538 mg CO₂ und 2,421 mg H₂O (A. P.)

3,690 mg Subst. verbr. 0,540 cm³ H₂ (24,4°; 729 mm) (Hydrierung mit Pt in Eisessig während 5½–6 Std.) (A. P.)

C ₂₃ H ₃₂ O ₃	Ber. C 77,49	H 9,05%	D.Z. = 1 ¹⁾
(356,49)	Gef. „ 77,41	„ 9,00%	„ = 2,05

Tetranitromethan-Probe: positiv (gelb). Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte ein Maximum bei ca. 212 m μ und $\log \epsilon = 4,32$ sowie eine leichte Inflexion zwischen ca. 250 und 290 m μ . Bei AR 15 dürfte es sich daher um nicht ganz reines α -Anhydro-digitoxigenin (XX) gehandelt haben. *Smith*⁶⁾ fand für diesen Stoff Smp. 234° und $[z]_D^{20} = +39,0^0$ (in Methanol).

Acetat: 19 mg Kristallisiert AR 15 wurden mit Pyridin-Acetanhydrid acetyliert. Das Rohprodukt (25 mg) gab nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äther-Petroläther 13 mg kleine Quader mit Doppel-Smp. 136–140°/164–173°. Nach Sublimation bei 0,02 Torr und 220–250° Badtemperatur aus Äther-Petroläther derbe Quader, Smp. 138 bis 140°, nach längerem Liegen Smp. 172–175°; $[z]_D^{16} = +36,1^0 \pm 3^0$ ($c = 0,719$ in Chloroform).

7,233 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,259^0 \pm 0,02^0$

Trocknung 3 Std. bei 0,01 Torr und 50°, kein Gewichtsverlust, aschefrei.

2,674 mg Subst. gaben 7,373 mg CO₂ und 2,078 mg H₂O (A. P.)

C ₂₅ H ₃₄ O ₄ (398,52)	Ber. C 75,34	H 8,60%	Gef. C 75,24	H 8,70%
---	--------------	---------	--------------	---------

Tetranitromethan-Probe: positiv (gelb). Es dürfte sich um α -Anhydro-digitoxigenin-acetat (XXI) handeln. *Smith*⁶⁾ fand für diesen Stoff Smp. 144° (aus Methanol).

„Kristallisiert AR 17“: Aus Äther kantige, stark lichtbrechende Klötzchen, Smp. 186–198° (Sintern ab 180°); $[z]_D^{17} = -28,3^0 \pm 2^0$ ($c = 1,011$ in Chloroform).

10,174 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,286^0 \pm 0,02^0$

Trocknung (3 Std. bei 0,01 Torr und 50° über P₂O₅, Schweinchen) gab keinen Gewichtsverlust.

3,929 mg Subst. gaben 11,190 mg CO₂ und 3,163 mg H₂O (A. P.)

C ₂₃ H ₃₂ O ₃ (356,49)	Ber. C 77,49	H 9,05%	Gef. C 77,72	H 9,01%
---	--------------	---------	--------------	---------

Tetranitromethan-Probe: positiv (gelb). Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte ein Maximum bei 215 m μ und $\log \epsilon = 4,22$. Mischprobe mit β -Anhydro-digitoxigenin (XIV) vom Smp. 184–192° schmolz bei 182–194°.

Acetat (AR 20): 9 mg „Kristallisiert AR 17“ wurden wie üblich acetyliert. Das Rohprodukt (14 mg) gab aus Äther-Petroläther 7 mg verfilzte Nadelchen, Smp. 180–182° (Sintern ab 172°); $[z]_D^{16} = -28,5^0 \pm 4^0$ ($c = 0,474$ in Chloroform).

4,768 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = -0,135^0 \pm 0,02^0$

Trocknung (3 Std. bei 0,01 Torr und 50° über P₂O₅, Schweinchen) gab keinen Gewichtsverlust. Aschefrei.

1) α -Anhydrodigitoxigenin sollte aus Analogiegründen bei der Hydrierung nur 1 Mol H₂ aufnehmen, doch scheint eine Hydrierung dieses Stoffes noch nie ausgeführt worden zu sein. Das entsprechende Anhydro-uzarigenin, das aus historischen Gründen als β -Anhydro-uzarigenin bezeichnet wird, nahm bei der Hydrierung (vgl. N. M. Shah, K. Meyer & T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **24**, 113 (1949)) nur 1 Mol Wasserstoff auf. Vgl. ferner Anm. 1, S. 695.

2) Möglicherweise von einem Nebenmaximum bei ca. 270 m μ und $\log \epsilon = 2,21$ herührend.

1,831 mg Subst. gaben 5,078 mg CO₂ und 1,454 mg H₂O (*A. P.*)

2,518 mg Subst. verbr. 0,184 cm³ H₂ (24,0°; 728 Torr) (Hydrierung mit Pt in Eisessig nach 5½—6 Std.) (*A. P.*)

C₂₅H₃₄O₄ Ber. C 75,34 H 8,60% D.Z. = 1 oder 2
(398,52) Gef. „ 75,68 „ 8,89% „ = 1,14

Authentisches β -Anhydro-digitoxigenin-acetat (XV) und die Mischprobe schmolzen gleich. Die Mischprobe mit α -Anhydro-uzarigenin-acetat (Smp. des 2 Jahre alten Präparats¹⁾ 176—179°; $[\alpha]_D^{19} = -35,9^\circ$ (Chf)) schmolz bei 152—179° (nach Sintern ab 125°), zeigte also deutliche Depression.

„Kristallisat AR 14“ (δ -Anhydro-digitoxigenin). Die Kristalle wurden zweimal aus Methanol-Äther-Petroläther umkristallisiert, Smp. unverändert 142—144°. Dann wurde im Molekularkolben bei 0,02 Torr und 200—260° Badtemperatur destilliert. Das Destillat gab aus Äther-Petroläther grobe, lange Prismen, Smp. 141—145°; $[\alpha]_D^{21} = +111,2^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,805$ in Chloroform).

8,103 mg Subst. zu 0,046 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0,896^\circ \pm 0,02^\circ$

Trocknung zur Analyse (3 Std. bei 0,01 Torr und 50° über P₂O₅, Schweinchen) gab 5,64% Gewichtsverlust; aschefrei.

3,212 mg Subst. gaben 9,147 mg CO₂ und 2,640 mg H₂O (*A. P.*)

4,496 mg Subst. verbr. 0,675 cm³ H₂ (23,5°; 730 Torr) (Hydrierung mit Pt in Eisessig während 5½—6 Std. Bis zur 4ten Std. waren 1,33 Mol H₂ aufgenommen) (*A. P.*)

C₂₃H₃₂O₃ Ber. C 77,49 H 9,05% D.Z. = 1 oder 2
(356,49) Gef. „ 77,71 „ 9,20% „ = 2,11

Tetranitromethan-Probe: positiv (gelb). *Legal*-Reaktion: positiv (rot). Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte ein Maximum bei ca. 212 m μ und $\log \epsilon = 4,25$. Färbung mit konz. H₂SO₄: farblos (im ersten Moment), citron (2'), dunkelgelb (30'), beige (1 Std.), grüngrau (2 Std.).

Acetat: 48 mg Kristallisat AR 14 wurden mit Pyridin-Acetanhydrid (2 Tage bei 25°) acetyliert. Das Rohprodukt (64 mg) gab aus Äther-Petroläther 43 mg dicke bootförmige Kristalle, Smp. 117—120°. Es wurde im Molekularkolben bei 0,02 Torr und 190—230° Badtemperatur destilliert. Das Destillat gab aus Äther-Petroläther derbe Platten, Smp. 118—120°; $[\alpha]_D^{17} = +115,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,988$ in Chloroform).

9,945 mg Subst. zu 1,0064 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +1,139^\circ \pm 0,02^\circ$

Gewichtsverlust bei Trocknung 0,43%; aschefrei.

3,683 mg Subst. gaben 10,24 mg CO₂ und 2,87 mg H₂O (*S. W.*)

C₂₅H₃₄O₄ (398,52) Ber. C 75,34 H 8,60% Gef. C 75,87 H 8,72%

Acetolyse von Odorotriosid-G-octacetat (IV).

1,5 g Odorotriosid-G-octacetat (IV) wurden mit der Lösung von 0,35 g frisch geschmolzenem ZnCl₂ in 25 cm³ Acetanhydrid 30 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt²⁾. Die rotbraune Lösung wurde 15 Min. erkalten gelassen, auf Eis gegossen und 16 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit fester Soda unter Kühlung fast neutralisiert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die gründlich mit Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge wurden eingedampft und der Rückstand (ca. 1,6 g) an 50 g Al₂O₃ chromatographiert.

Die ersten 5 mit Petroläther-Benzol bis zu 50% Benzolgehalt eluierten Fraktionen gaben nur Spuren amorphen Materials.

Die Fraktionen 6—9 (insgesamt 286 mg gelbes Glas, eluiert mit Petroläther-Benzol (1:3)) gaben nur wenig Kristalle (Smp. ca. 142—174°). Nach positiver Tetranitromethan-Probe und H₂SO₄-Reaktion lag ein Gemisch von Anhydro-digitoxigenin-acetaten vor.

¹⁾ N. M. Shah, K. Meyer & T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **24**, 113 (1949).

²⁾ Vgl. R. Tschesche, B. **69**, 2368 (1936).

Die Fraktionen 10–23 (insgesamt 757 mg, eluiert mit reinem Benzol sowie Benzol-Chloroform-Gemischen von 5–50% Chloroformgehalt) gaben aus Äther insgesamt 267 mg krist. α -Octacetyl-gentiobiose (I).

Die weiteren mit reinem Chloroform sowie Chloroform-Methanol-(4:1) eluierten Fraktionen gaben noch insgesamt 595 mg gelbes bis dunkelbraunes Material, das nicht untersucht wurde.

Identifizierung der α -Octacetyl-gentiobiose (I).

Zweimaliges Umkristallisieren aus Äther gab 217 mg farblose dünne Nadeln, Smp. 186–189°; $[\alpha]_D^{19} = +50,3^0 \pm 2^0$ ($c = 0,956$ in Chloroform).

9,623 mg Subst. zu $1,0064 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{19} = +0,481^0 \pm 0,02^0$

Trocknung zur Analyse (1 Std. 50°) gab keinen Gewichtsverlust.

3,101 mg Subst. gaben 5,599 mg CO_2 und 1,589 mg H_2O (OAB)

$\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{19}$ (678,58) Ber. C 49,56 H 5,65% Gef. C 49,27 H 5,73%

Tetranitromethan-Probe: negativ. H_2SO_4 -Reaktion: farblos. *Fehling'sche* Lösung wird in der Hitze reduziert. Authentische α -Octacetyl-gentiobiose (I) sowie die Mischprobe schmolzen gleich. *Hudson & Johnson*^{a)} fanden für reines I Smp. 188–189° und $[\alpha]_D^{20} = +52,4^0$ (in Chloroform).

Die Mikroanalysen wurden in folgenden Laboratorien ausgeführt: Mikrolabor der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung W. Manser) (ETH.), Mikrolabor der Organ.-chemischen Anstalt der Universität Basel (Leitung E. Thommen) (OAB), bei Herrn A. Peisker, Brugg (A.P.), bei Frau Dr. M. Sobotka und Herrn Dr. E. Wiesenberger, Graz (S.W.). Die UV.-Absorptionsspektren wurden teils von Herrn P. Zoller in der Organ.-chem. Anstalt, teils von uns selbst zusammen mit Herrn K. Reyle in der Pharmaz. Anstalt der Universität Basel mit einem Beckman-Quarz-Spectrophotometer Modell DU in Alkohol aufgenommen.

Zusammenfassung.

Die Isolierung des früher als Odorosid G bezeichneten Triglykosids in Form seines Octacetats (IV) aus der Rinde von *Nerium odoratum* wurde mit grösseren Mengen wiederholt. Das aus dem Octacetat durch Verseifung mit KHCO_3 in wässrigem Methanol erhaltene Triglykosid (früher als Odorosid G bezeichnet) ist als Monoacetat III erkannt worden, mit einer Acetylgruppe im Digitaloseanteil. Um Verwechslungen zu vermeiden, wird der Stoff als Odorotriosid-G-monoacetat bezeichnet.

Durch Behandlung mit Strophanthobiase wurde III in D-Glucose und ein Gemisch von Odorobiosid-G-monoacetat (VI) und Odorosid-H-monoacetat (X) gespalten. Einwirkung von Strophanthobiase oder besser von dem Enzym aus den Samen von *Adenium multiflorum* auf VI gab weitere Mengen von X. Durch das Fermentgemisch aus dem Hepatopankreassaft der Weinbergschnecke wurde VI in ein Gemisch von freiem Odorobiosid G (V) und Odorosid H (IX) übergeführt. Mit demselben Fermentgemisch liess sich X fast quantitativ zu IX entacetylieren. Dieselbe Reaktion gelang in schlechter Ausbeute auch mit Hilfe von Bariummethyolat oder KHCO_3 .

Die Hydrolyse von X mit HCl in Aceton gab neben D-Digitalose ein Stoffgemisch, aus dem unter anderem Digitoxigenin und β -Anhydrodigitoxigenin isoliert werden konnten. Daraus folgt, dass Odorosid H

ein D-Digitalosid des Digitoxigenins darstellt. Aus den Drehungswerten ergibt sich eine β -glykosidische Verknüpfung der zwei Komponenten.

Nach Acetolyse von Odorotriosid-G-octacetat (IV) mit ZnCl_2 in Acetanhydrid liess sich α -Octacetylgentiobiose (I) isolieren. Daraus lässt sich die Konstitution des Odorotriosids G (II) bis auf die Verknüpfungsart zwischen der mittleren Glucose und dem Digitalose-Rest ableiten.

Energische saure Hydrolyse des Odorosid-H-monoacetats (X) mit HCl in wässriger Essigsäure gab neben D-Digitalose ein Gemisch verschiedener, teilweise acetylierter Anhydro-digitoxigenine, aus dem sich vier Kristallisate isolieren liessen. Eines (Nr. AR6K) war möglicherweise nicht ganz reines β -Anhydro-digitoxigenin-acetat (XV). Das zweite (Nr. AR 15) dürfte mit α -Anhydro-digitoxigenin (XX) identisch gewesen sein. Das dritte (Nr. AR 17) war dem bekannten β -Anhydro-digitoxigenin (XIV) sehr ähnlich, zeigte aber eine stärker negative Drehung. Obwohl die Reinheit nicht ganz sicher ist, nennen wir dieses Produkt vorläufig „ γ -Anhydro-digitoxigenin“. Das vierte Kristallisat (AR 14) besass ebenfalls die Formel $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_3$ und gab ein gut krist. Acetat $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_4$. Es unterschied sich von den bekannten Anhydro-digitoxigeninen XIV und XX hauptsächlich durch seine starke Rechtsdrehung. Wir nennen den Stoff vorläufig δ -Anhydro-digitoxigenin.

Curriculum vitae.

Als Sohn von Alfred Rheiner, Chemiker, von St. Gallen, und seiner Gattin Hedwig Maria, geb. Hofmann, wurde ich, *Alfred Rheiner*, am 3. Oktober 1925 in Basel geboren.

Nach der Primarschule Neuallschwil (1932—36) besuchte ich das Realgymnasium Basel (1936—44) und schloss meine Schulzeit im Frühjahr 1944 mit dem Maturitätsexamen Typus B ab.

Im Sommersemester 1944 immatrikulierte ich mich an der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel und begann mit dem Chemie-Studium an der Anstalt für anorganische Chemie unter Leitung von Prof. Dr. H. Erlenmeyer. Nach dem Vorexamen in anorganischer Chemie trat ich im Sommersemester 1947 in die Anstalt für organische Chemie unter Leitung von Prof. Dr. T. Reichstein ein und absolvierte das Vorexamen in organischer Chemie Ende 1948.

Im Juni 1945 bestand ich das Nebenfachexamen in Mineralogie bei Prof. Dr. M. Reinhard, im März 1947 dasjenige in physikalischer Chemie bei Prof. Dr. W. Kuhn und schliesslich im Juli 1950 dasjenige in Physik bei Prof. Dr. P. Huber.

Auf Anregung und unter der Leitung von Prof. Dr. T. Reichstein begann ich im Februar 1949 mit der vorliegenden Arbeit, die im Juli 1951 abgeschlossen wurde.

Während meines Studiums besuchte ich die Vorlesungen und Praktika der folgenden Herren Professoren und Dozenten: E. Bolding, M. Brenner, P. Buchner, H. Dahn, H. Erlenmeyer, C. A. Grob, P. Huber, H. Kuhn, W. Kuhn, E. Miescher, H. Mohler, A. Ostrowski, T. Reichstein, M. Reinhard, P. Ruggli (†), E. Schlittler, P. Vosseler, R. Wizinger.

Allen diesen Herren danke ich für die gute Ausbildung, die sie mir zuteil werden liessen.

